



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO  
MESTRADO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

**VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBIVORIA EM PLANTAS DE  
MANDIOCA E ATRATIVIDADE A ÁCAROS (ACARI:  
TETRANYCHIDAE: PHYTOSEIIDAE)**

RANNA HEIDY SANTOS BEZERRA

Mestrado Acadêmico

São Cristóvão  
Sergipe – Brasil

2017

RANNA HEIDY SANTOS BEZERRA

**VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBIVORIA EM PLANTAS DE  
MANDIOCA E ATRATIVIDADE A ÁCAROS (ACARI:  
TETRANYCHIDAE: PHYTOSEIIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de  
Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título  
de Mestre em Ecologia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Bianca Giuliano Ambrogi

Co-orientadora: Dr.<sup>a</sup> Delia Milagros Pinto Zevallos

São Cristóvão

Sergipe – Brasil

2017

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

B574v Bezerra, Ranna Heidy Santos.  
Voláteis induzidos por herbivoria em plantas de mandioca e atratividade a ácaros (Acari: Tetranychidae: Phytoseiidae) / Ranna Heidy Santos Bezerra; orientadora Bianca Giuliano Ambrogi. – São Cristóvão, 2017.  
68 f.: il.

Dissertação (mestrado em Ecologia e Conservação)–  
Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Compostos orgânicos. 2. Mandioca. 3. Ácaros de plantas.  
I. Ambrogi, Bianca Giuliano, orient. II. Título.

CDU 633.493

**TERMO DE APROVAÇÃO**

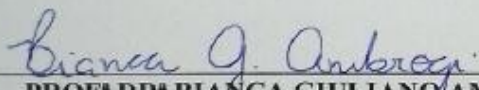
**VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBIVORIA EM PLANTAS  
DE MANDIOCA E ATRATIVIDADE A ÁCAROS (ACARI:  
TETRANYCHIDAE: PHYTOSEIIDAE)**

por

**RANNA HEIDY SANTOS BEZERRA**

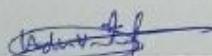
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

**APROVADA** pela banca examinadora composta por



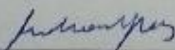
**PROFª DRª BIANCA GIULIANO AMBROGI**

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da  
Universidade Federal de Sergipe



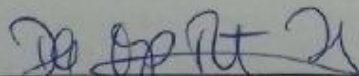
**PROF. DR. ADENIR VIEIRA TEODORO**

EMBRAPA Tabuleiros Costeiros



**PROFª DRª ANDREA YU KWAN VILLAR SHAN**

Universidade Federal de Sergipe



**PROFª DRª DELIA MILAGROS PINTO ZEVALLOS**

Universidade Federal de Sergipe

São Cristóvão/SE, 21 de fevereiro de 2017

*À minha mãe e avó Rosália (in  
memorian), meus maiores exemplos  
de força, fé e superação. À minha  
irmã, minha companheira. Ao Danilo,  
meu suporte em todas as horas.*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

Após dois anos de mestrado posso afirmar que cresci muito, não apenas academicamente, mas principalmente como ser humano. A certeza de que não estamos sozinhos e que não conseguimos nada sem o auxílio do próximo foi reforçada a cada dia através da companhia de pessoas especiais, sejam elas professores, amigos ou colegas, que se mantiveram presentes ao longo do curso, dentro e fora da universidade. Com o final de mais uma etapa não poderia deixar de agradecer àqueles que de alguma forma contribuíram para que eu pudesse encerrar mais esse ciclo.

Primeiramente agradeço a Deus pela vida e pelas bênçãos recebidas a cada dia, por permitir que mesmo diante das dificuldades eu pudesse chegar ao final, que me deu forças quando senti que não conseguiria e principalmente por sempre se mostrar presente.

Agradeço às pessoas mais importantes da minha vida, mainha, Rayanna e Danilo, não esquecendo as minhas filhotas Biju, Pepper e Capitú. À mainha, por sempre me apoiar e incentivar fazendo questão de que eu continue estudando, proporcionando meios para isso. Por mesmo com todas as dificuldades e problemas de saúde e financeiros que enfrenta sempre se esforçar para dar tudo o que minha irmã e eu precisamos. À minha avó Rosália (*in memorian*) por me ensinar a estudar e me esforçar desde cedo. À minha irmã, Rayanna, pelo companheirismo e incentivo em todos os momentos, mesmo implicando comigo diariamente sei que você não viveria sem mim. Ao Danilo, pelo amor e amizade, por ser a companhia em todas as horas e principalmente pela paciência com meus estresses e preocupações por vezes desnecessárias. Por sempre se dispor a me ajudar e não medir esforços para me fazer bem.

Agradeço aos amigos do Laboratório de Ecologia Química e do Laboratório de Ecologia de Insetos que me acolheram muito bem desde o início do mestrado. Abel, Rony, Philippe e mais recentemente Arleu pelos momentos de descontração e pela ajuda com as dúvidas no trabalho. Às meninas, companheiras de todo dia, Juci, Rafaella, Hosana e Camila, por deixarem esse mestrado mais leve, por todas as risadas, conversas, conselhos, paciência e incentivo. Pelas palavras de ânimo quando o desespero apertava e por nunca negarem um pedido de ajuda (principalmente Juci, que não sabe dizer “Não!”).

Agradeço as novas amigas que o mestrado me proporcionou, Meggie e Arivânia, que acompanharam mais de perto todo o processo. Aos demais colegas de curso Camila, Roberto, Isaac, Philippe e Joana que assim como eu, tiveram alegrias e dificuldades ao longo dessa jornada, mas que também conseguiram chegar ao final.

Agradeço aos amigos que permaneceram após a graduação, Ângelo e Léo, por todo apoio e até pelos momentos entediante vendo vocês e Danilo jogando poker e vídeo game. À amiga muito especial que Deus me deu, Anna Talita, a qual eu tenho certeza de que sempre posso contar.

Agradeço a minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Bianca Ambrogi, por ter aceitado me orientar mesmo sabendo que eu não possuía conhecimento algum de ecologia química, e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo desses dois anos. À minha co-orientadora, Dr.<sup>a</sup> Delia M. Pinto-Zevallos, pelo apoio, orientação e contato direto com o trabalho, estando presente em todas as etapas do projeto. À Dr.<sup>a</sup> Silvia Ribeiro de Souza do Instituto de Botânica de São Paulo pela participação direta no projeto realizando as análises químicas e identificação dos compostos, além de me receber no Instituto de Botânica. Aos pesquisadores da Embrapa Tabuleiros Costeiros Dr. Helio Wilson e Dr. Adenir Vieira Teodoro pelo auxílio no planejamento do projeto. Aos professores Dr. Manoel Guedes Correa Gondim Junior (UFRPE) e Dr. Marçal Pedro Neto (UFT) que identificaram os ácaros utilizados no projeto. Ao Prof. Leandro Souto pelo auxílio com as análises estatísticas nessa etapa final.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe pela oportunidade em fazer o mestrado e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo auxílio financeiro concedido através da bolsa. À Juliana Cordeiro, a secretária mais eficiente de todos os programas de pós-graduação da UFS, sempre resolvendo todos os problemas possíveis e impossíveis. A todos os professores que transmitiram seus conhecimentos durante as disciplinas, permitindo que eu crescesse cada dia mais.

A todos que cruzaram o meu caminho e contribuíram para que eu pudesse alcançar mais uma vitória, muito obrigada!

## RESUMO

As plantas constantemente liberam um conjunto de compostos orgânicos voláteis (COVs) para a atmosfera que pode diferir qualitativa e quantitativamente dos voláteis que são liberados quando são atacadas por herbívoros. A composição desses voláteis é específica, variando de acordo com a espécie de planta e do herbívoro, e com os estágios de desenvolvimento e condições dessas espécies. Os COVs são importantes na mediação de interações específicas, podendo atrair predadores e parasitoides, repelir herbívoros e mediar a comunicação entre plantas vizinhas e diferentes partes de uma mesma planta. A mandioca, *Manihot esculenta*, é uma planta nativa do Brasil, sendo cultivada em todas as regiões, destacando-se a região Nordeste, com importante papel na alimentação humana e animal, como matéria-prima para produtos industriais e geração de emprego e renda. Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de identificar os COVs induzidos por herbivoria e observar a sua influência no comportamento dos herbívoros e seus inimigos naturais, porém pouco se sabe sobre as emissões de COVs das plantas de mandioca e seu papel nas interações artrópodes-plantas. No presente estudo buscou-se identificar os voláteis induzidos pela herbivoria dos ácaros *Mononychellus tanajoa*, *Tetranychus urticae* e *T. gloveri* em plantas de mandioca, e como esses ácaros herbívoros e o ácaro predador *Neoseiulus idaeus* respondem aos conjuntos de COVs induzidos. Foram identificados 23 compostos (monoterpenos, sesquiterpenos, aldeídos, álcool, oximas, éster, indole e fenilpropanoide) liberados pelas plantas de mandioca sadias e submetidas à herbivoria. Plantas com herbivoria emitiram novos compostos que não foram liberados pelas plantas sadias. Foi encontrada diferença significativa na emissão de salicilato de metila pelas plantas com herbivoria de *M. tanajoa* e *T. gloveri*, e (Z)-3-hexen-1-ol pelas plantas com herbivoria de *T. urticae*, quando comparadas com as plantas sadias. Os compostos (Z)- $\beta$ -ocimeno, 2-metil propanol oxima, 2-metil butanol oxima, indole, metil anthranilate e (E)-nerolidol foram induzidos apenas pela herbivoria de *T. urticae* e podem estar envolvidos na atração de *N. idaeus*, uma vez que o predador com experiência em mandioca preferiu significativamente as plantas infestadas com *T. urticae* em comparação às plantas sadias. *Tetranychus gloveri* com experiência em mandioca preferiu plantas de mandioca sadias em comparação ao ar limpo, demonstrando que a planta produz voláteis atraentes para os herbívoros. Pode-se concluir que após a herbivoria plantas de mandioca emitem COVs que diferem qualitativa e quantitativamente daqueles liberados pelas plantas sadias e a quantidade total emitida aumenta com a densidade de ácaros na planta.



Apesar da emissão de COVs conhecidos por atraírem ácaros predadores pelas plantas infestadas com *M. tanajoa* e *T. gloveri*, *N. idaeus* não preferiu as plantas infestadas, sugerindo que o nível de indução não foi suficiente ou esses ácaros herbívoros não são atraentes para o predador.

**Palavras-chave:** compostos orgânicos voláteis; defesas indiretas; *Manihot esculenta*; *Mononychellus tanajoa*; *Tetranychus gloveri*; *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus idaeus*.

## ABSTRACT

Under natural conditions, plants release volatile organic compounds (VOCs) that can differ either qualitative or quantitatively from those induced by herbivory. Induced VOCs are specific, varying with the attacked plant species, with the herbivore, and the developmental stages and conditions from both species. Induced VOCs mediate important ecological interactions. They can attract predators and parasitoids, repel herbivores and mediate communication between neighboring plants and different parts of the same plant. Cassava (*Manihot esculenta*) is a native plant from Brazil cultivated in all regions, but mainly in the northeast region. It has an important role in animal and human feeding, manufacturing of industrial products and the creation of jobs and income. Several studies have been conducted to identify the volatile compounds induced by herbivory and observe their influence in the behavior of herbivores and their natural enemies, however, to date little is known about the VOCs emissions of cassava plants and their role in arthropod-plant interactions. This study aimed at identifying the volatiles induced by herbivory from the herbivorous mites *Mononychellus tanjoa*, *Tetranychus urticae* and *T. gloveri* in cassava plants, and how these herbivorous mites and the predatory mite *Neoseiulus idaeus* respond to induced VOCs blends. Twenty three compounds (monoterpenes, sesquiterpenes, aldehyde, alcohol, esters, oxime, phenylpropanoid and indole) were identified in the headspace of healthy and mite-damaged cassava plants. Herbivore-damaged plants released novel compounds that weren't emitted by the healthy plants. Significant difference were found in the emission of methyl salicylate by *M. tanajoa* and *T. gloveri* infested plants, and (Z)-3-hexen-1-ol infested with *T. urticae*, when compared to healthy plants. The compounds (Z)- $\beta$ -ocimene, 2-methyl propanol oxime, 2-methyl butanoloxime, indole, methyl anthranilate and (E)-nerolidol were only induced by herbivory from *T. urticae*, and may be involved in the attraction of *N. idaeus*, since the predator with experience in cassava significantly preferred plants infested with *T. urticae* compared to healthy plants. *Tetranychus gloveri* with cassava experience preferred healthy cassava plants compared to clean air, demonstrating that the plant produces volatiles that are attractive to herbivores. It can be concluded that after the herbivory cassava plants emit VOCs that differ qualitatively and quantitatively from those released by healthy plants and the total amount emitted increases with the density of mites in the plant. Despite the emission of VOCs known to attract predatory mites by plants infested with *M. tanajoa* and *T. gloveri*, *N. idaeus*

did not prefer infested plants, suggesting that the level of induction was not sufficient or these herbivorous mites are not attractive to the predator.

**Key-words:** volatile organic compounds; indirect defense; *Manihot esculenta*; *Mononychellus tanajoa*; *Tetranychus gloveri*; *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus idaeus*.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Plantas de Mandioca ( <i>Manihot esculenta</i> ) cultivadas em vasos para utilização na coleta de voláteis e bioensaio.  | 29 |
| <b>Figura 2.</b> Manivas utilizadas para cultivar as plantas de mandioca usadas na coleta de voláteis e bioensaio.  | 29 |
| <b>Figura 3.</b> Ácaro-verde-da-mandioca ( <i>Mononychellus tanajoa</i> )   | 30 |
| <b>Figura 4.</b> Ácaro-rajado ( <i>Tetranychus urticae</i> )  | 31 |
| <b>Figura 5.</b> Ácaro-vermelho ( <i>Tetranychus gloveri</i> )  | 31 |
| <b>Figura 6.</b> Ácaro predador ( <i>Neoseiulus idaeus</i> )  | 32 |
| <b>Figura 7.</b> Sistema de aeração utilizado para coleta de voláteis da mandioca.  | 34 |
| <b>Figura 8.</b> Câmaras de aeração utilizadas para a coleta de voláteis e bioensaio  | 35 |
| <b>Figura 9.</b> Cartuchos de aço inoxidável contendo polímero adsorvente Tenax.  | 35 |
| <b>Figura 10.</b> Olfatômetro em “Y”  | 38 |
| <b>Figura 11.</b> Porcentagem da preferência olfativa de <i>Neoseiulus idaeus</i> , com experiência em mandioca e feijão, em olfatômetro em “Y” aos voláteis de <i>Manihot esculenta</i> sem dano ou com herbivoria de <i>Tetranychus urticae</i> . | 50 |
| <b>Figura 12.</b> Porcentagem de resposta olfativa de <i>Tetranychus gloveri</i> em olfatômetro em “Y” aos voláteis de <i>Manihot esculenta</i> sem dano ou com herbivoria de coespecíficos.  | 53 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Concentração dos voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com <i>Mononychellus tanajoa</i> nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200 ácaros) e Planta Sadia vs Herbivoria (400 ácaros).....   | 40 |
| <b>Tabela 2.</b> Concentração dos voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com <i>Tetranychus urticae</i> nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200 ácaros) e Planta Sadia vs Herbivoria (400 ácaros).....   | 43 |
| <b>Tabela 3.</b> Concentração dos voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com <i>Tetranychus gloveri</i> nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200) e Planta Sadia vs Herbivoria (400). ....  | 45 |
| <b>Tabela 4.</b> Concentração média (MD±EP) do total de voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com <i>Mononychellus tanajoa</i> , <i>Tetranychus urticae</i> e <i>Tetranychus gloveri</i> nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200 ácaros) e Planta Sadia vs Herbivoria (400 ácaros)..... | 46 |

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| RESUMO .....   | 8         |
| ABSTRACT .....   | 10        |
| LISTA DE FIGURAS .....   | 12        |
| LISTA DE TABELAS .....   | 13        |
| <b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>  | <b>16</b> |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>   | <b>19</b> |
| 2.1 Voláteis de plantas e a atração de inimigos naturais .....                                     | 19        |
| 2.2 <i>Manihot esculenta</i> (Euphorbiaceae) .....   | 24        |
| 2.3 Ácaros Herbívoros (Acari: Tetranychidae).....  | 24        |
| 2.4 Ácaro Predador (Acari: Phytoseiidae) .....   | 26        |
| <b>3 OBJETIVOS .....</b>   | <b>27</b> |
| 3.1 Objetivo geral .....   | 27        |
| 3.2 Objetivos específicos .....  | 27        |
| <b>4 HIPÓTESES .....</b>   | <b>27</b> |
| <b>5 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>  | <b>28</b> |
| 5.1 Obtenção de plantas de mandioca.....   | 28        |
| 5.2 Obtenção dos ácaros herbívoros .....   | 29        |
| 5.3 Obtenção do ácaro predador .....   | 31        |
| 5.4 Coleta de voláteis.....  | 33        |
| 5.5 Identificação dos compostos voláteis .....   | 36        |
| 5.6 Bioensaios de preferência olfativa.....  | 36        |
| 5.7 Análises estatísticas .....  | 38        |
| <b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>  | <b>39</b> |
| 6.1 Identificação e quantificação dos compostos voláteis .....                                     | 39        |
| 6.1.1 Identificação dos compostos voláteis após a herbivoria de <i>Mononychellus tanajoa</i> ..... | 39        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 6.1.2    | Identificação dos compostos voláteis após a herbivoria de <i>Tetranychus urticae</i> ..... | 42        |
| 6.1.3    | Identificação dos compostos voláteis após a herbivoria de <i>Tetranychus gloveri</i> ..... | 45        |
| 6.1.4    | Influência da densidade de herbívoros na emissão de compostos voláteis .....               | 46        |
| 6.1.5    | Influência da espécie de herbívoro na emissão de compostos voláteis .....                  | 48        |
| 6.2      | Preferência olfativa do ácaro predador <i>Neoseiulus idaeus</i> .....                      | 50        |
| 6.3      | Preferência olfativa do ácaro herbívoro <i>Tetranychus gloveri</i> .....                   | 53        |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSÃO</b> .....   | <b>55</b> |
| <b>8</b> | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....  | <b>56</b> |

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As interações entre plantas, artrópodes herbívoros e inimigos naturais, formam um modelo complexo de interação tritrófica (Azeredo *et al.*, 2004). Tais interações ocorrem dentro de um ambiente físico e químico espacialmente diversificado e dinâmico, incluindo todas as relações de ataque e defesa entre diferentes níveis tróficos, bem como as interações inter e intraespecíficas dentro de cada nível (Moraes *et al.*, 2000). Artrópodes herbívoros exercem suas interações com o ambiente e com os outros organismos de várias maneiras, destacando-se a comunicação por meio de semioquímicos (sinais químicos), através dos quais, encontram parceiros para o acasalamento, alimento, locais para oviposição e se defendem contra predadores (Zarbin *et al.*, 2009). Nas plantas, os semioquímicos podem mediar interações entre elas próprias e também entre o segundo e terceiro níveis tróficos (Silva *et al.*, 2012).

Essas interações possuem importância fundamental no equilíbrio natural das populações de um ecossistema, uma vez que o mecanismo da densidade-dependente recíproca atua nessas relações de forma que o número de indivíduos de uma população que ocupa determinado nível trófico é regulado por outra população, e vice-versa (Aguiar-Menezes e Menezes, 2005).

Como defesa contra artrópodes herbívoros, as plantas desenvolveram e aperfeiçoaram uma diversidade considerável de mecanismos de defesa diretos e indiretos (Arimura *et al.*, 2009; Pinto-Zevallos *et al.*, 2013). Os mecanismos diretos atuam diretamente sobre os herbívoros e incluem barreiras físicas, como a cutícula, tricomas, espinhos e superfícies serosas que interferem na mobilidade e alimentação dos artrópodes (Karban e Baldwin, 1997), e barreiras químicas, por meio da produção de metabólitos secundários tóxicos e proteínas de defesa que provocam ação repelente, supressora de oviposição e alimentação, além de dificultar a digestão (Arimura *et al.*, 2005). Os mecanismos indiretos envolvem a atração de parasitoides e predadores por meio de estruturas que oferecem alimento e proteção como, nectários extraflorais e domácias e/ou por meio de compostos orgânicos voláteis (COVs) induzidos pela herbivoria (Chen, 2008). Os parasitoides e predadores atraídos podem exercer controle biológico natural sobre os herbívoros (Dicke *et al.*, 1990; Kessler e Baldwin, 2001; Arimura *et al.*, 2009; Agrawal, 2010).



As plantas, em condições normais, liberam pequenas quantidades de COVs, porém quando danificadas por herbivoria, a quantidade liberada aumenta em relação às plantas saudáveis ou danificadas mecanicamente (Paré e Tumlinson, 1999).

Os COVs liberados pelas plantas são induzidos após a herbivoria ou oviposição pela ativação de rotas metabólicas que envolvem o reconhecimento de substâncias elicitoras, ativação de fito-hormônios e genes que podem desencadear uma resposta local e/ou sistêmica de defesa na planta (Karban e Baldwin, 1997). As substâncias elicitoras geralmente estão presentes nas secreções orais dos herbívoros e entram em contato com a planta através dos ferimentos causados pela herbivoria, iniciando reações químicas que culminam com a síntese de compostos químicos (Dicke, 1999).

Diversos trabalhos têm demonstrado a capacidade dos COVs induzidos pela herbivoria em atrair os inimigos naturais dos herbívoros que atacam diversas culturas (Dicke *et al.*, 1990; Turlings *et al.*, 1995; De Moraes *et al.*, 1998; Sarmiento *et al.*, 2008). Muitos estudos sobre a emissão de COVs têm se concentrado em seus efeitos nas interações planta-herbívoro-predador e na dinâmica de populações, visando entender os processos ecológicos e desenvolver estratégias de manejo sem prejuízos para a saúde e o meio ambiente (Pinto-Zevallos e Zarbin, 2013). A maioria dos estudos sobre defesas indiretas das plantas e seu papel nas interações tritróficas entre plantas-herbívoros-parasitoides/predadores tem focado nos ambientes agrícolas devido ao seu grande potencial econômico.

Os COVs induzidos pela herbivoria, além de facilitarem a localização de presas e hospedeiros pelos inimigos naturais tanto na parte aérea como na subterrânea (Kappers *et al.*, 2011), podem atrair ou repelir outros herbívoros e mediar a comunicação entre plantas vizinhas induzindo também a emissão de voláteis em plantas não atacadas (Dicke *et al.*, 1990; 1999; 2003; Arimura *et al.*, 2002). Dessa maneira, esses COVs influenciam cadeias alimentares, e têm um impacto importante na dinâmica de populações e na estrutura das comunidades de artrópodes (Dicke *et al.*, 2003), podendo também alertar outros herbívoros sobre a produção de compostos tóxicos pela planta, sobre a presença potencial de competidores, assim como de inimigos naturais que são atraídos após a indução (Bernasconi *et al.*, 1998).

A mandioca *Manihot esculenta* Crantz é uma planta dicotiledônea pertencente à família Euphorbiaceae, nativa do Brasil, sendo cultivada em todas as regiões, sobretudo no Nordeste (Embrapa, 2006). Esta cultura possui um papel muito importante na alimentação humana e animal, bem como matéria-prima para inúmeros produtos industriais, geração de

emprego e de renda (Fokuda e Otsubo, 2003; Oliveira e Lima, 2006). As plantas de mandioca são atacadas por diversos artrópodes e, segundo Bellotti *et al.* (2002), cerca de 200 espécies são associadas ao cultivo, sendo os ácaros considerados pragas severas (Embrapa, 2006).

Os ácaros penetram o estilete no tecido foliar e sugam o conteúdo celular (Embrapa, 2006). O ácaro-verde-da-mandioca (*Mononychellus tanajoa* Bondar, 1938) é considerado uma das principais pragas dessa cultura no Nordeste, principalmente no semiárido, iniciando sua infestação pela parte superior das plantas, atacando as gemas e folhas novas (Bellotti *et al.*, 1983). Outro ácaro que ataca a cultura da mandioca é o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae* Koch, 1836) que possui preferência pelas folhas que se encontram nas partes mediana e basal da planta (Embrapa, 2006). Além desses, outra espécie de ácaro que também é encontrada na cultura da mandioca, é o *Tetranychus gloveri* Banks, 1990, porém de menor importância econômica que os citados anteriormente.

Os inimigos naturais dos ácaros herbívoros citados acima incluem ácaros predadores da família Phytoseiidae (Embrapa, 2006). O ácaro *Neoseiulus idaeus* Denmark e Muma, 1973 é relatado como o principal predador associado a *M. tanajoa* no nordeste do Brasil (Moraes *et al.*, 1990), demonstrando também capacidade para controlar a população de *T. urticae* em culturas de mandioca (Moraes *et al.*, 1994), mamão (Collier *et al.*, 2007), soja (Reichert *et al.*, 2016), entre outras.

Diante do exposto, esse trabalho tem por objetivo verificar as diferenças na composição de COVs induzidos por diferentes espécies de herbívoros e a influência desses compostos no comportamento de ácaros herbívoros e seu inimigo natural, utilizando o sistema-modelo formado pela planta *M. esculenta*, os ácaros herbívoros *M. tanajoa*, *T. urticae* e *T. gloveri* e o ácaro predador *N. idaeus*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Voláteis de plantas e a atração de inimigos naturais

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) atuam como uma linguagem que as plantas utilizam para sua interação com o ambiente circundante (Dudareva *et al.*, 2006), sendo produzidos de maneira constitutiva, independente do ataque de herbívoros, ou induzida pela herbivoria. Os COVs produzidos constitutivamente oferecem à planta defesa contra agentes de estresse, como oxidação e temperaturas elevadas, medeiam interações entre as plantas e o meio ambiente através da atração de polinizadores e disseminadores de sementes, além de repelirem insetos e as protegerem de microrganismos (Pichersky e Gershenzon, 2002; Pinto-Zevallos *et al.*, 2013). No entanto, os induzidos pela herbivoria podem desempenhar diversos papéis ecológicos, tais como a localização de presas ou hospedeiros pelos inimigos naturais, atrair ou repelir outros herbívoros e mediar a comunicação entre plantas vizinhas e diferentes partes de uma mesma planta (Dicke *et al.*, 1990; 1999; 2003; Arimura *et al.*, 2002). Esses COVs induzidos podem também ser utilizados como indicadores da densidade da presa ou para seleção de sítios de oviposição (Baverstock *et al.*, 2005).

Plantas de feijão-lima (*Phaseolus lunatus*), milho (*Zea mays*), pepino (*Cucumis sativus*) e maçã (*Malus* spp.) respondem à herbivoria do ácaro *T. urticae* produzindo COVs que atraem o ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* (Takabayashi e Dicke, 1996). O ácaro *T. urticae* é atraído por plantas de pepino infestadas por coespecíficos, mas é repelido pelos COVs de plantas infestadas por heteroespecíficos, tripes *Frankliniella occidentalis* (Pallini *et al.*, 1997). Também foi demonstrado que o pulgão *Rhopalosiphum maidis* prefere plantas de milho saudáveis em comparação às plantas tratadas com regurgito da lagarta de *Spodoptera littoralis*, sugerindo que esses herbívoros são repelidos pelos COVs induzidos. Os afídios podem ser sensíveis aos COVs induzidos emitidos por plantas de milho porque um dos principais compostos é o (*E*)- $\beta$ -farneseno, que é um feromônio de alarme comum em pulgões (Bernasconi *et al.*, 1998).

Os COVs induzidos por herbivoria também medeiam interações planta-planta e podem induzir a expressão de genes de defesa e a emissão em folhas saudáveis na mesma planta ou de plantas vizinhas não atacadas, aumentando sua atratividade aos inimigos naturais e diminuindo sua susceptibilidade ao herbívoro (Dicke *et al.*, 1990; Arimura *et al.*, 2002). Foi demonstrado que COVs liberados por plantas de feijão *P. lunatus* infestadas com *T. urticae* induzem a expressão de genes de defesa e iniciam a emissão em plantas vizinhas não atacadas

(Arimura *et al.*, 2000). De modo semelhante foi demonstrado que o contato de plantas de tabaco *Nicotiana attenuata* sem dano com os compostos liberados por *Artemisia tridentata* danificada por herbivoria, resultou em menor dano pela infestação com a lagarta *Manduca sexta* e maior taxa de mortalidade de lagartas (Kessler *et al.*, 2006). A exposição de plantas de milho intactas a (Z)-3-hexen-1-ol induz a emissão de COVs tipicamente liberados após o ataque de lagartas e atraentes para inimigos naturais de herbívoros (Ruther e Kleiber, 2005).

O uso de COVs na localização de presas ou hospedeiros pelos inimigos naturais depende da sua detectabilidade no ambiente e da confiabilidade da informação quanto a presença do hospedeiro ou presa (Vet e Dicke, 1992). Os COVs emitidos pelos herbívoros são indicadores confiáveis da sua presença, porém, devido à pequena biomassa dos herbívoros quando comparados às plantas, esses compostos são produzidos em pequenas quantidades sendo detectados com dificuldade pelos inimigos naturais a longas distâncias. As plantas por possuírem maior biomassa produzem maiores quantidades de COVs que embora possuam menor confiabilidade são detectados com mais facilidade pelos inimigos naturais (Vet e Dicke, 1992). Além disso, os herbívoros estão constantemente se adaptando para não serem detectados (Dicke e Van Loon, 2000), sendo a adaptação dos inimigos naturais aos COVs induzidos de grande vantagem tanto para as plantas quanto para os predadores e parasitoides (Pinto-Zevallos *et al.*, 2013).

Os inimigos naturais podem responder à COVs induzidos por herbivoria de forma inata ou podem ajustar sua resposta comportamental a qualquer odor relevante associado às suas presas ou hospedeiros (Drukker *et al.*, 2000). De maneira geral, os organismos especialistas respondem de maneira inata, uma vez que somente o ataque da sua presa/hospedeiro irá promover a liberação de um conjunto específico que os atrairá (Steidle e Van Loon, 2003). No entanto, alguns organismos generalistas, a maioria predadores, utilizam a aprendizagem para detectar os sinais químicos associados à sua presa (Vet e Dicke, 1992; Steidler e Van Loon, 2003).

Os predadores podem detectar a presença de presas a partir da variação nas misturas de COVs de plantas induzidas por herbívoros e a aprendizagem adaptativa pode atualizar as suas preferências para os voláteis específicos (ou suas misturas) se estes forem experimentados na presença de presas adequadas (Drukker *et al.*, 2000; De Boer *et al.*, 2005; Takabayashi *et al.* 2006). A aprendizagem é uma importante fonte de variabilidade comportamental no forrageamento de inimigos naturais (Vet e Dicke, 1992). A preferência de ácaros predadores aos odores de plantas infestadas por presas é parcialmente determinada pela

experiência anterior de forrageamento (Takabayashi e Dicke, 1992; Krips *et al.*, 1999; Drukker *et al.*, 2000).

O ácaro predador *P. persimilis*, com experiência em plantas de feijão, não mostrou preferência por plantas de pepino infestadas com *T. urticae* em comparação às plantas sadias. A resposta do ácaro predador às folhas de pepino infestadas com *T. urticae* aumentou significativamente após sete dias de experiência em plantas de pepino. Os autores sugeriram que os predadores aprenderam a responder aos odores por sensibilização, ou seja, após a exposição prolongada (Takabayashi *et al.*, 1994). Semelhantemente, *P. persimilis* criados em plantas de feijão não foram atraídos para os COVs de plantas de gérbera induzidos por *T. urticae*. Em contraste, os predadores que foram criados em plantas de gérbera foram atraídos pelos COVs emitidos pelas plantas infestadas (Krips *et al.*, 1999).

Cerca de 2.000 COVs liberados em resposta ao ataque de herbívoros foram identificados a partir de 900 famílias de plantas (Rodriguez-Saona *et al.*, 2009). Esses COVs induzidos são compostos lipofílicos com alta pressão de vapor que são liberados a partir das folhas, flores e frutos para a atmosfera e a partir das raízes no solo em resposta ao ataque do herbívoro (Dudareva *et al.*, 2006; Arimura *et al.*, 2009). A emissão não é restrita apenas ao local danificado ocorrendo também nos tecidos não danificados, caracterizando uma indução sistêmica, o que aumenta a detectabilidade do sinal (Dicke *et al.*, 1990; Turlings e Tumlinson, 1992; Dicke, 2009).

Turlings *et al.* (1995) e de Moraes *et al.* (1998) demonstraram que a composição de COVs liberados é espécie-específica, dependendo da espécie de planta atacada e do herbívoro, sendo facilmente distinguíveis, pelos predadores e parasitoides, de outros odores presentes no ambiente. Dicke *et al.* (1990) observaram que plantas de feijão-lima, *P. lunatus*, infestadas com o ácaro rajado *T. urticae*, liberam um conjunto de COVs que atrai o ácaro predador *P. persimilis*. De maneira semelhante, Gnanvossou *et al.* (2001) demonstraram que os ácaros predadores *Typhlodromalus manihoti* e *T. aripo* são atraídos significativamente a plantas de mandioca infestadas com o ácaro-verde-da-mandioca em comparação a plantas não infestadas. Sarmiento *et al.* (2008) demonstraram que a joaninha *Cycloneda sanguinea* é atraída pelos odores de plantas de tomate infestadas com o pulgão *Macrosiphum euphorbiae* e com o ácaro *Tetranychus evansi*, mas não é atraído pelas plantas não infestadas. Dessa maneira pode-se afirmar que os predadores foram capazes de utilizar os odores induzidos por herbivoria para diferenciar entre COVs provenientes de plantas sadias e infestadas com suas presas.

A composição dos COVs liberados pelas plantas após a herbivoria geralmente variam dependendo do tipo de herbívoro que está causando o dano, do hábito alimentar e do estágio de vida desse herbívoro e também da presença de diferentes espécies de herbívoros na mesma planta (Turlings *et al.*, 1995; Moraes *et al.*, 2005). De Moraes *et al.* (1998) demonstraram que plantas de tabaco, algodão e milho produzem misturas distintas em resposta a herbivoria das lagartas de *Heliothis virescens* e *Helicoverpa zea*, além de evidenciarem que a vespa parasita de hábito especialista *Cardiochiles nigriceps* consegue diferenciar os odores emitidos pelas plantas infestadas pelo seu hospedeiro *H. virescens*, daquelas infestadas por *H. zea*.

Os COVs liberados após a herbivoria diferem também dos liberados por plantas saudas ou danificadas mecanicamente (Turlings *et al.*, 1995; Karban e Baldwin, 1997; Dicke e Vet, 1999). Em um estudo comparando a atratividade do percevejo predador, *Podisus nigrispinus*, para os COVs liberados por plantas do gênero *Eucalyptus* danificadas mecanicamente e por plantas danificadas pela lagarta *Thyrinteina arnobia*, os percevejos foram mais atraídos para as plantas sob herbivoria de *T. arnobia* (Cavalcanti *et al.* 2000).

A indução pode ocorrer após a herbivoria ou oviposição, por meio da ativação de rotas metabólicas que envolvem o reconhecimento de substâncias elicitoras, ativação de fitohormônios e genes que podem desencadear uma resposta local e/ou sistêmica de defesa na planta (Karbon e Baldwin, 1997). As substâncias elicitoras geralmente estão presentes nas secreções orais e nos fluidos de oviposição dos herbívoros e entram em contato com o interior da planta através dos ferimentos causados pela herbivoria, iniciando reações químicas que culminam com a síntese de compostos químicos (Dicke, 1999). A indução também pode ser reproduzida por meio da aplicação exógena de elicitores e hormônios vegetais como ácido jasmônico e ácido salicílico (Turlings *et al.*, 1995; Dicke e Van Loon, 2000). A exposição à COVs de plantas que foram atacadas também pode induzir a expressão de genes de defesa e a emissão em folhas saudas da mesma planta ou em plantas vizinhas que não sofreram dano preparando-a para responder mais rápida e intensamente ao ataque de herbívoros (Arimura *et al.*, 2005; Kessler *et al.*, 2006).

A primeira substância elicitora a ser identificada foi a volicitina N-(17-hidroxi-linolenil)-L-glutamina presente na secreção oral de *Spodoptera exigua*, que induz a emissão em *Zea mays* (Alborn *et al.*, 1997; Turlings *et al.*, 2000). Outros elicitores já foram identificados em diferentes espécies de insetos, entre eles: a  $\beta$ -glicosidase encontrada na secreção oral de *Pieris brassicae* que provoca a liberação de COVs que atraem a vespa parasita *Cotesia glomerata* (Mattiacci *et al.*, 1995), a N-linolenil-glutamina isolada a partir do regurgito de *Manduca sexta* que induz a emissão em plantas de tabaco (Baldwin *et al.*, 2001), as inceptinas

produzidas através da digestão de proteínas vegetais no intestino de *Spodoptera frugiperda* que induzem a emissão em *Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata* e *Zea mays* (Schmelz *et al.*, 2006; 2007), a fosfatase alcalina presente na saliva de *Bemisia tabaci* (Funk, 2001), entre outros.

Os COVs induzidos por herbivoria dividem-se principalmente em voláteis de folhas verdes, terpenoides, fenilpropanoides/benzenoides, ácidos graxos e derivados de aminoácidos (Dudareva *et al.*, 2004) que são sintetizados através de diferentes vias metabólicas (War *et al.*, 2011). Os genes envolvidos na síntese dos COVs induzidos são ativados por vias de transdução de sinal mediadas principalmente pelos fito-hormônios ácido jasmônico, ácido salicílico e etileno (Thaler *et al.*, 2012).

Segundo Paré e Tumlinson (1999), foram identificadas quatro vias metabólicas envolvidas na produção dos COVs induzidos, sendo a via metabólica do mevalonato e via metabólica do metil-eritritol-fosfato que dão origem aos terpenos, a via metabólica da lipoxigenase que dá origem aos voláteis de folhas verdes e a via metabólica do ácido shiquímico que origina os fenilpropanoides.

Os voláteis de folhas verdes são liberados imediatamente após o dano do herbívoro (War *et al.*, 2011), e produzidos quando as folhas são danificadas, independentemente do agente causador do dano (Turlings *et al.*, 1998), sendo emitidos principalmente quando o dano é mecânico (Pinto-Zevallos *et al.*, 2013). Os terpenoides são o grupo mais diversificado de COVs induzidos, sendo produzidos mais tardiamente em relação aos voláteis de folha verde. Eles são produzidos em resposta a danos causados por herbivoria, e geralmente são liberados não somente no tecido danificado, mas também em folhas sem danos, por meio da indução sistêmica na planta (Paré e Tumlinson, 1999). Os fenilpropanoides e os benzenoides constituem outra grande classe de COVs induzidos (War *et al.*, 2011). Um dos COVs mais frequentes na mistura induzida após a herbivoria é o fenilpropanoide salicilato de metila, que foi relatado no perfil emitido por plantas de feijão (Dicke *et al.*, 1990; Maeda e Tabakayashi, 2001), maçã (Takabayashi *et al.*, 1991), pepino (Kappers *et al.*, 2011), couve (Munn *et al.*, 2008), entre outras. Os derivados de ácidos graxos e aminoácidos, assim como as demais classes de COVs, desempenham um papel importante na defesa da planta recrutando os inimigos naturais. Os derivados de ácidos graxos são formados a partir do ácido linolênico e liberados imediatamente após o dano do herbívoro e os derivados de aminoácidos incluem aldeídos, alcoóis, ésteres, ácidos e compostos contendo azoto e enxofre (War *et al.*, 2011).

## 2.2 *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae)

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta dicotiledônea pertencente à família Euphorbiaceae, nativa do Brasil, sendo cultivada em todas as regiões, sobretudo no Nordeste (Embrapa, 2006). Com uma produção de cerca de 279 milhões de toneladas em 2014, a mandioca constitui uma das principais explorações agrícolas do mundo (FAO, 2016). O cultivo da mandioca é de grande importância na segurança alimentar dos povos que habitam as regiões tropicais e subtropicais, compondo parte fundamental da alimentação de cerca de 600 milhões de pessoas em todo o mundo, além da utilização na alimentação animal, como matéria-prima para inúmeros produtos industriais, geração de emprego e de renda (Fokuda e Otsubo, 2003; Oliveira e Lima, 2006). O Brasil ocupa a segunda posição na produção mundial de mandioca, com aproximadamente 23 milhões de toneladas em 2015 (IBGE, 2016). Na região Nordeste, a mandioca assume grande importância social e constitui a principal cultura de subsistência, utilizada principalmente para o consumo familiar sob a forma de farinha e amido, sendo uma excelente fonte de carboidratos nas raízes e de proteínas na parte aérea (Fukuda e Saad, 2001).

As plantas de mandioca são atacadas por diversos artrópodes e, segundo Bellotti *et al.* (2002), cerca de 200 espécies são associadas ao cultivo, muitas das quais são específicas e adaptadas de maneira variável aos fatores naturais de resistência da planta hospedeira, como os compostos cianogênicos, e que co-evoluíram com a cultura. Entre os artrópodes que podem causar danos a cultura pode-se citar mandarová (*Erinnyis ello*), mosca branca (*Aleurothrixus aepim* e *Bemisia tuberculata*), percevejo de renda (*Vatiga illudens*), ácaros (*M. tanajoa* e *T. urticae*), sendo os últimos considerados mais severos (Embrapa, 2006).

## 2.3 Ácaros Herbívoros (Acari: Tetranychidae)

Ácaros herbívoros atacam e causam danos severos as plantas de mandioca, sendo encontrados em grande número na face inferior das folhas, sobretudo durante a estação seca do ano. Eles se alimentam penetrando o estilete no tecido foliar e sugando o conteúdo celular (Embrapa, 2006). Dentre os ácaros encontrados na cultura da mandioca no nordeste do Brasil estão *Mononychellus tanajoa* Bondar, 1938, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 e *Tetranychus gloveri* Banks, 1990, sendo as três espécies pertencentes à família Tetranychidae.

Os ácaros tetraniquídeos, conhecidos por ácaros de teia são fitófagos (Flechtman, 1982), associados às diversas espécies de plantas em todo o mundo, atacando culturas alimentares, industriais e ornamentais, causando elevados prejuízos e por vezes a morte da



planta hospedeira. Esses possuem coloração variada como, vermelho, verde, amarelo ou alaranjado. Muitas espécies dessa família constroem teias para sua proteção e defesa contra predadores, ventos fortes, chuvas, impedir o estabelecimento de outras espécies no nicho ocupado, delimitar a áreas de procura por parceiros sexuais, entre outras funções (Carmona e Dias, 1996).

O ácaro-verde-da-mandioca, *Mononychellus tanajoa* (Bondar, 1938), é uma espécie nativa da América do Sul (Bellotti *et al.*, 1982), sendo considerado uma praga de importância econômica para a cultura da mandioca no continente e em países do continente africano, onde foi acidentalmente introduzido na década de 70 (Yaninek *et al.*, 1989). Esse ácaro é uma das principais pragas que afetam o cultivo da mandioca no Nordeste do Brasil, principalmente no semiárido, em condições de temperatura elevada e umidade relativamente baixa, atingindo altas populações, iniciando pela parte superior das plantas, atacando as gemas e folhas novas, se alimentando preferencialmente na face inferior das folhas (Bellotti *et al.*, 1983). Os sintomas iniciais da sua infestação são pequenas manchas cloróticas em torno das nervuras, com posterior amarelecimento das folhas que perdem sua cor verde característica, crescendo geralmente deformadas (Embrapa, 2006), seguidos de bronzeamento e queda das folhas, a partir do ápice, reduzindo a área foliar e a taxa fotossintética (Bellotti *et al.* 1983).

O ácaro-rajado (*Tetranychus urticae* Koch, 1836) possui hábito polífago (Carmona e Dias, 1996) e tem preferência pelas folhas que se encontram nas partes média e basal da planta (Embrapa, 2006), provocando o aparecimento de pontuações cloróticas, que se tornam manchas amareladas ou necróticas, provocando redução na área fotossintética e diminuição na produção. Esse ácaro tem causado consideráveis prejuízos em diversas culturas no Brasil (Flechtmann, 1985), como morango (Fadini *et al.*, 2004; Ferla *et al.*, 2007), soja (Flechtmann, 1975), pepino (Watannabe *et al.*, 1994; Kappers *et al.*, 2011), sendo encontrado também em antúrio, feijão, berinjela (Moraes e Flechtmann, 1981), entre outras.

As fêmeas do ácaro-rajado possuem o corpo ovalado de cor esverdeada com uma mancha preta em ambos os lados da linha média dorsal e os machos têm a extremidade posterior do abdome mais estreita, sendo da mesma cor (Embrapa, 2006). De modo geral, as fêmeas apresentam duas manchas verde-escuras no dorso, uma de cada lado. (Gallo *et al.*, 2002).

O ácaro-vermelho (*T. gloveri* Banks, 1990), é generalista, registrado sobre 100 hospedeiros diferentes ao longo do Pacífico e do Continente Americano. Foi registrado pela primeira vez em plantas de algodão *Gossypium hirsutum* nos Estados Unidos e é encontrado

em diferentes espécies de plantas como banana, algodão, feijão, berinjela, beterraba, ervilha, palmeira, papaia e muitas espécies ornamentais e de ervas daninhas. No Brasil foi relatado em grãos na Bahia e em mamoeiro (Migeon e Dorkeld, 2006). Sua presença em plantas de mandioca foi registrada no continente americano (Howeler, 2012) e também nessa cultura em Sergipe. As fêmeas possuem cor vermelho brilhante e os machos são alaranjados. Os ácaros ficam localizados na parte inferior das folhas, próximo à nervura central e se alimentam do conteúdo celular (Department of Agriculture and Fisheries, Queenslad Government, 2010).

## **2.4 Ácaro Predador (Acari: Phytoseiidae)**

Os ácaros da Família Phytoseiidae são importantes predadores de ácaros tetraniquídeos, sendo utilizados para o controle biológico (Carmona e Dias, 1996). A partir do final da década de 1950, os ácaros fitoseídeos passaram a ser extensivamente reconhecidos como eficientes predadores de ácaros fitófagos (McMurtry *et al.*, 1970). Os inimigos dos ácaros fitófagos *M. tanajoa*, *T. urticae* e *T. gloveri* incluem ácaros predadores da família Phytoseiidae (Embrapa, 2006). O ácaro *Neoseiulus idaeus* Denmark e Muma, 1973 possui hábito generalista e tem preferência pelos ácaros que produzem teias (Croft *et al.*, 2004). Seu potencial para o controle biológico foi demonstrado após o sucesso da sua introdução para o controle do ácaro-verde-da-mandioca em Benin, África, onde foi introduzido acidentalmente (Yaninek *et al.*, 1991). Esse ácaro predador é relatado como o principal predador associado a *M. tanajoa* no nordeste do Brasil (Moraes *et al.*, 1990), demonstrando capacidade para controlar a população de *T. urticae* em culturas de mandioca (Moraes *et al.*, 1994), mamão (Collier *et al.*, 2007), soja (Reichert *et al.*, 2016), entre outras.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Investigar as interações tritróficas mediadas por COVs induzidos por herbivoria, utilizando a mandioca como planta-modelo, os ácaros herbívoros que atacam essa cultura (*M. tanajoa*, *T. urticae* e *T. gloveri*), e o ácaro predador *N. idaeus*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Determinar os perfis químicos de COVs emitidos por plantas de mandioca sadias e submetidas à herbivoria de ácaros;
- Verificar se há diferença quantitativa e qualitativa na composição de COVs emitidos por plantas de mandioca sadias e submetidas à herbivoria;
- Verificar se a densidade de herbívoros influencia na emissão de COVs induzidos por herbivoria;
- Verificar a atratividade dos ácaros herbívoros e do ácaro predador *N. idaeus* aos COVs de mandioca induzidos por herbivoria;
- Verificar se a experiência prévia do ácaro predador *N. idaeus* e dos ácaros herbívoros em plantas de feijão ou mandioca, afeta a atratividade dos mesmos às plantas de mandioca com herbivoria.

### 4 HIPÓTESES

- A herbivoria de ácaros influencia a composição de COVs emitidos por plantas de mandioca.
  - Espera-se que o conjunto de COVs emitidos por plantas de mandioca sadias e que sofreram herbivoria sejam diferentes qualitativa e quantitativamente.
- A densidade de ácaros herbívoros influencia a composição de COVs emitidos por plantas de mandioca.
  - Espera-se que as plantas de mandioca com maior densidade de herbívoros emitam diferentes compostos e em diferentes quantidades.

- A herbivoria influencia a atração do ácaro predador e dos ácaros herbívoros aos COVs emitidos por plantas de mandioca.
  - Espera-se que o ácaro predador e os ácaros herbívoros sejam atraídos diferentemente pelos COVs emitidos pelas plantas de mandioca danificadas por herbivoria.
- A experiência prévia do ácaro predador e dos ácaros herbívoros em plantas de feijão e mandioca influencia sua atratividade às plantas de mandioca infestadas com os ácaros herbívoros.
  - Espera-se que os ácaros com experiência em plantas de mandioca sejam mais atraídos pelos voláteis de mandioca do que os ácaros criados em plantas de feijão devido à sua experiência prévia.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Obtenção de plantas de mandioca

As plantas de mandioca *Manihot esculenta* foram cultivadas segundo a metodologia descrita por Bertschy *et al.* (1997) (Figura 1). As manivas (Figura 2) foram fornecidas pelo pesquisador Dr. Helio Wilson da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizada no município de Aracaju, Sergipe. A variedade de mandioca utilizada nos experimentos foi a Kiriris, resistente à podridão de raízes e adaptada ao clima semiárido de Sergipe (Embrapa, 2006).

As manivas foram cortadas em partes de aproximadamente 10 a 15 cm e plantadas mensalmente em vasos de 3,6L, utilizando como substrato terra proveniente do Campus Rural da Universidade Federal de Sergipe (UFS) localizado no município de São Cristóvão. Para o plantio foram utilizados aproximadamente 3,5L de substrato misturado com 18g de fertilizante químico NPK (10% nitrogênio, 10% fósforo, 10% potássio). As plantas foram regadas em dias alternados ou diariamente quando observado que o substrato estava seco. Cerca de cinco semanas após o plantio, quando atingiram entre 8 a 9 folhas, as plantas foram utilizadas para coleta de voláteis e bioensaios.



**Figura 1.** Plantas de mandioca (*Manihot esculenta*) cultivadas em vasos para utilização na coleta de voláteis e bioensaios.



**Figura 2.** Manivas utilizadas para cultivar as plantas de mandioca usadas na coleta de voláteis e bioensaios.

## 5.2 Obtenção dos ácaros herbívoros

O ácaro-verde-da-mandioca (*M. tanajoa*) (Figura 3) foi coletado em plantas de mandioca no Campus de São Cristóvão da UFS. Antes dos experimentos os ácaros foram transferidos para plantas de mandioca da variedade kiriris cultivadas como descrito anteriormente.

O ácaro-rajado (*T. urticae*) (Figura 4) e o ácaro-vermelho (*T. gloveri*) (Figura 5) foram coletados em cultivos de mandioca nos municípios de Aracaju e São Cristóvão, no estado de

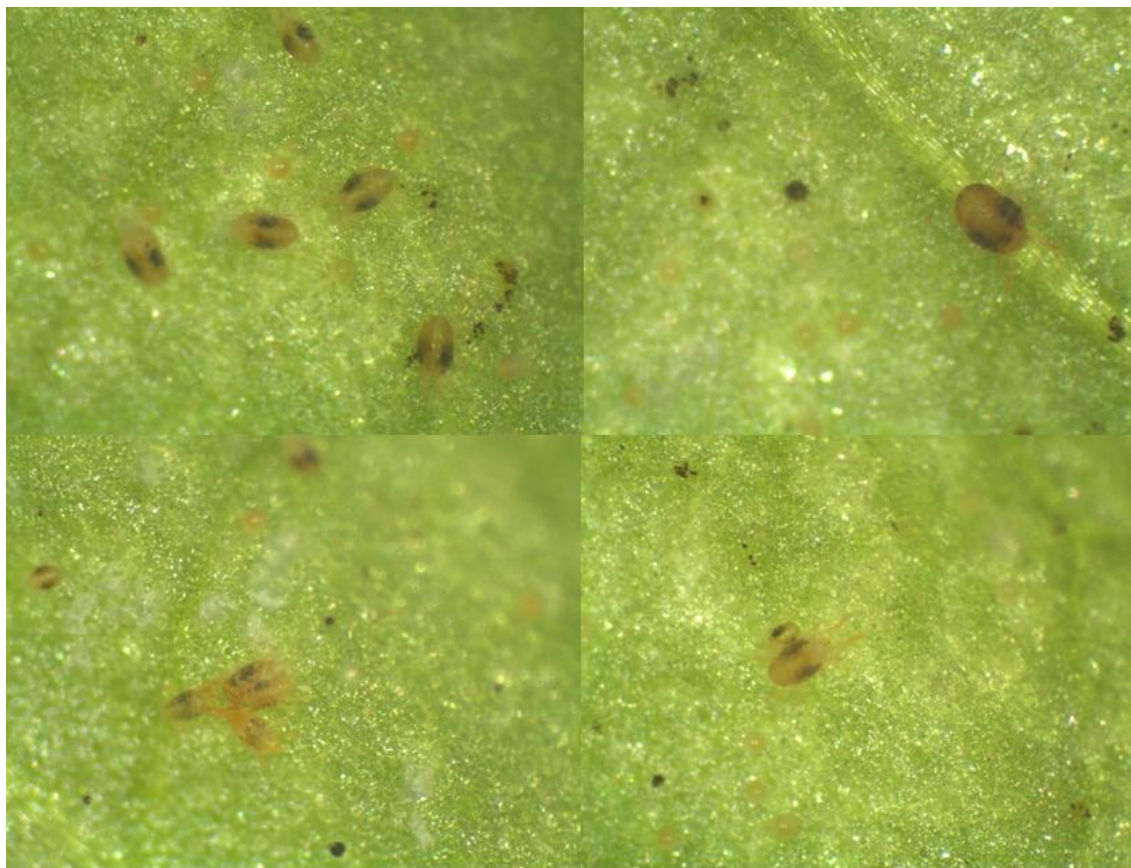
Sergipe. Para a criação, os ácaros foram mantidos em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) dispostas em bandejas contendo água e colocadas em gaiolas de plástico teladas (45x45x45cm, malha de 149µm, Lab Creation, Piracicaba, SP) para evitar sua fuga. Cada espécie foi mantida em gaiola individual no Laboratório de Entomologia da UFS sob condições naturais de temperatura e umidade. As plantas de feijão mortas foram substituídas por plantas novas garantindo que houvesse alimento constante para os ácaros.

O ácaro-vermelho foi identificado pelo Prof. Dr. Manoel Guedes Correia Gondim Junior da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), que também identificou o ácaro-rajado, e pelo Prof. Dr. Marçal Pedro Neto da Universidade Federal do Tocantins (UFT).



**Figura 3.** Ácaro-verde-da-mandioca (*Mononychellus tanajoa*)





**Figura 4.** Ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*)



**Figura 5.** Ácaro-vermelho (*Tetranychus gloveri*)

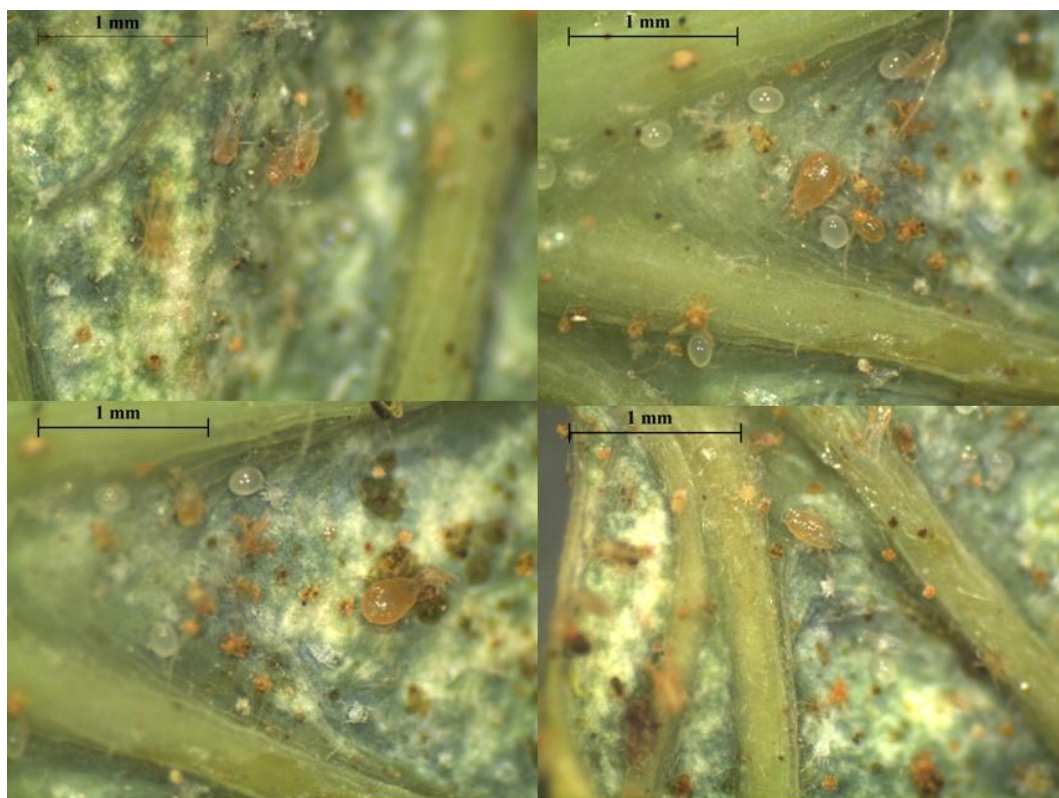
### 5.3 Obtenção do ácaro predador

O ácaro predador *N. idaeus* (Figura 6), também foi coletado em plantas de mandioca no Campus de São Cristóvão da UFS, transferidos para plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e mantidos em gaiolas conforme descrito acima para os ácaros vermelho e rajado. A

alimentação dos ácaros predadores variou de acordo com os experimentos que foram realizados.

Para realização dos experimentos com o ácaro predador com experiência em plantas de feijão, os indivíduos foram mantidos em plantas dessa cultura e alimentados com *T. urticae* quando foi testada sua preferência olfativa por COVs de mandioca induzidos por herbivoria do ácaro-rajado ou alimentados com *T. gloveri* quando foi testada sua preferência olfativa aos COVs de mandioca induzidos pelo ácaro-vermelho. No entanto, para testar a preferência dos predadores com experiência em feijão aos COVs de mandioca induzidos por herbivoria do ácaro-verde-da-mandioca, os predadores foram alimentados com *T. urticae*. Para os experimentos realizados com o ácaro predador com experiência em plantas de mandioca, os ácaros utilizados nos testes foram transferidos das plantas de feijão para plantas de mandioca com no mínimo sete dias antes da realização dos bioensaios. Durante esse período os ácaros foram alimentados com *M. tanajoa*, *T. urticae* ou *T. gloveri*, quando foram testadas a sua preferência aos COVs induzidos pelo ácaro-verde-da-mandioca, ácaro-rajado e ácaro-vermelho respectivamente.

O ácaro predador *N. iadeus* foi identificado pelo Prof. Dr. Manoel Guedes Correia Gondim Júnior, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).



**Figura 6.** Ácaro predador (*Neoseiulus idaeus*)



## 5.4 Coleta de voláteis

Para coleta de COVs foi utilizado um sistema de aeração que consiste na passagem do fluxo de ar previamente filtrado e umedecido por câmaras de vidro fechadas, onde foram dispostas as plantas de cada tratamento. Os COVs liberados pela planta foram carregados e retidos em polímeros adsorventes localizados na saída das câmaras. O sistema de aeração (Figura 7) foi constituído por dois compressores de ar (um realizando pressão no início do sistema e o outro vácuo no final do sistema), duas colunas de carvão ativo e uma proveta com água destilada na entrada do sistema que purificaram e umedeceram o ar, respectivamente, dois fluxômetros (um no início e outro no final do sistema) para manter a vazão de ar constante e duas câmaras de vidro onde foram colocadas as plantas (Figura 8). Para cada câmara foi disposta uma fonte de luz ultra-violeta.

O fluxo de ar na entrada da câmara foi mantido em 3L/min e dividido entre as duas câmaras (1,5L/min por câmara). Na saída da câmara o fluxo de ar foi mantido em 0,4L/min para coleta de COVs. No final do sistema foi colocada uma conexão “T” para permitir a saída do fluxo de ar.

Dentro das câmaras foram colocadas as plantas inteiras, sendo que os vasos contendo substrato foram cobertos com sacos de poliéster e fechados com lacre de teflon a fim de evitar a contaminação por resíduos do substrato e do vaso. Os COVs foram coletados a partir de plantas sem herbivoria (controle) e de plantas com 72h horas após a infestação com 200 e 400 fêmeas de *M. tanajoa*, *T. urticae* ou *T. gloveri* separadamente. Os ácaros foram distribuídos em grupos de 100 entre as duas folhas superiores quando as plantas foram infestadas com 200 fêmeas e em um grupo de 100 e dois grupos de 150 entre as três folhas superiores quando as plantas foram infestadas com 400 fêmeas.

As plantas foram aeradas por um período de 90 min, e os COVs liberados ficaram retidos em polímero adsorvente (200mg de Tenax TA (20/35 mesh; Grace-Alltech, Deerfield, MI, EUA) em cartuchos de aço inoxidável (Markes, Llantrisant, UK)) (Figura 9). Cada tratamento foi repetido seis vezes, porém algumas amostras foram perdidas durante a análise dos voláteis resultando em alguns tratamentos com quatro.

Foram coletados voláteis dos seguintes tratamentos:

- Plantas sadias vs Ar limpo;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 200 ácaros *M. tanajoa* (4 amostras);
- Plantas sadias vs Herbivoria de 400 ácaros *M. tanajoa* (6 amostras);
- Plantas sadias vs Herbivoria de 200 ácaros *T. urticae* (4 amostras);

- Plantas sadias vs Herbiboria de 400 ácaros *T. urticae* (4 amostras);
- Plantas sadias vs Herbiboria de 200 ácaros *T. gloveri* (6 amostras);
- Plantas sadias vs Herbiboria de 400 ácaros *T. gloveri* (4 amostras).

Após a coleta dos voláteis as folhas foram cortadas e secas em estufa a 60°C durante 72h. O peso seco das folhas foi medido para corrigir a diferença entre o tamanho das plantas utilizadas em cada experimento e expressar as concentrações em ng/g de peso seco/h.



**Figura 7.** Sistema de aeração utilizado para coleta de voláteis da mandioca. 1= coluna de carvão; 2= coluna de água; 3= fluxômetro; 4= fonte de luz ultravioleta; 5= câmara de aeração; 6= conexão “T”; 7= polímero adsorvente.



**Figura 8.** Câmaras de aeração utilizadas para a coleta de voláteis e bioensaios.



**Figura 9.** Cartuchos de aço inoxidável contendo polímero adsorvente Tenax.

## 5.5 Identificação dos compostos voláteis

Os voláteis coletados no material adsorvente foram enviados para o Instituto de Botânica do Estado de São Paulo (IBt) e analisados pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Ribeiro de Souza.

Os compostos voláteis foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) (MSD 5973; Agilent GC 6890). Os compostos retidos no polímero adsorvente foram recuperados por dessorção térmica (sistema de dessorção térmica automática Perkin-Elmer ATD400, Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA) a 250°C durante 10 min, concentrados criogenicamente a -30°C e injetados em uma coluna capilar HP-5 (espessura do filme de 50x0,2 mm d.i. x 0,5µm; Hewlett-Packard) com hélio como gás de arraste. A temperatura do forno da coluna foi mantida a 40°C durante 1min, depois aumentada para 210°C a uma taxa de 5°C min e em seguida aumentada para 250°C a uma taxa de 20°C min.

Os compostos foram identificados por comparação dos seus espectros de massa com os dos compostos na biblioteca NIST MS 2.0 e com padrões puros disponíveis comercialmente. A quantificação dos compostos individuais foi conseguida comparando a área do pico com a área do pico de concentrações conhecidas de compostos sintéticos. Hexenal, 2-hexenal e 3-hexen-1-ol foram calculados propondo que suas respostas fossem as mesmas respostas de (Z)-2-hexen-1-ol,  $\alpha$ -farneseno,  $\alpha$ -ylangeno, humuleno e  $\beta$ -copaeno a mesma resposta de cariofileno, e (E)-geranil acetona a mesma que 6-metil-5-hepteno-2-ona. As taxas de emissão foram calculadas e expressas em ng por grama de peso seco foliar por hora (folhas secas a 60°C durante 72 horas).

## 5.6 Bioensaios de preferência olfativa

A preferência olfativa das fêmeas do ácaro predador *N. idaeus* e do ácaro herbívoro *T. gloveri* com experiência em plantas de feijão e mandioca foram observadas. A preferência olfativa de *M. tanajoa* e *T. urticae* não foi observada, pois nos testes preliminares realizados não houve resposta.

O sistema utilizado para os bioensaios foi o mesmo utilizado para coleta de voláteis. O fluxo de ar contínuo com vazão de 0,5L/m (Cakmak *et al.*, 2006) foi produzido por uma bomba de compressão e previamente filtrado e umedecido por meio de dois filtros de carvão ativo e pela coluna de água destilada, respectivamente. Para observar a resposta dos ácaros foi utilizado um olfatômetro tipo “Y” (Figura 10) (Sabelis e Van De Baan, 1983), que consiste em um tubo de vidro com 2,5cm de diâmetro, tendo o seu tubo principal 14cm de

comprimento e 11cm em cada um dos dois braços. Cada um dos braços do olfatômetro foi conectado à uma fonte de odor presente na câmara de areação. Na base do tubo principal do olfatômetro cada fêmea foi disposta individualmente.

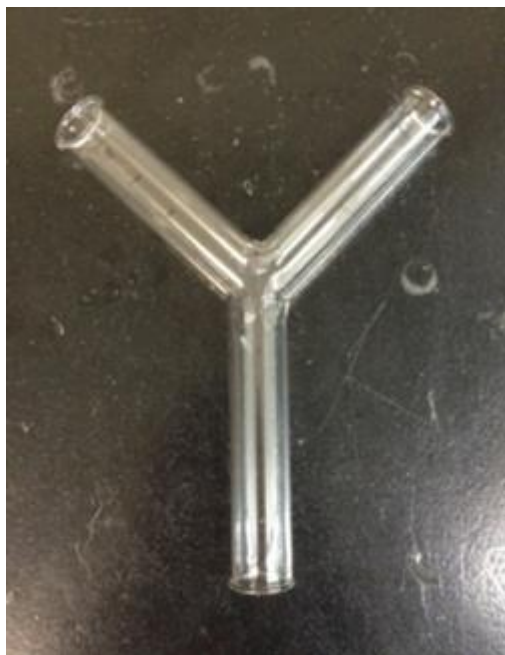
Foi observada a preferência olfativa das fêmeas de *N. idaeus* com experiência em plantas de feijão e mandioca aos seguintes tratamentos:

- Plantas sadias vs Ar limpo;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 200 ácaros *M. tanajoa*;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 400 ácaros *M. tanajoa*;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 400 ácaros *T. urticae*;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 200 ácaros *T. gloveri*;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 400 ácaros *T. gloveri*.

A preferência das fêmeas de *T. gloveri* com experiência em plantas de feijão e mandioca foi observada para os seguintes tratamentos:

- Plantas sadias vs Ar limpo;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 200 ácaros *T. gloveri*;
- Plantas sadias vs Herbivoria de 400 ácaros *T. gloveri*;

Antes de iniciar os experimentos, as fêmeas foram retiradas das folhas de mandioca ou feijão, e dispostas separadamente em *ependorfs* onde permaneceram sem alimentação por um período de 2h (Gnanvossou *et al.*, 2001). Foram utilizadas no mínimo 60 fêmeas de cada espécie por tratamento. As fêmeas foram colocadas na extremidade do braço principal do olfatômetro e seu comportamento foi observado durante cinco minutos. A resposta foi considerada quando o ácaro ultrapassou a metade de um dos braços menores e permaneceu por no mínimo 20 segundos. Os indivíduos que permaneceram no braço principal do olfatômetro por mais de cinco minutos foram excluídos das análises. A cada fêmea, o olfatômetro foi invertido 180° e a cada 15 ácaros as fontes de odor foram invertidas para evitar que as fêmeas se habituassem a um dos lados.



**Figura 10.** Olfatômetro em “Y”

### 5.7 Análises estatísticas

Após a identificação e determinação da concentração dos compostos voláteis, cada composto foi analisado individualmente. A quantidade dos COVs dos tratamentos (planta sadia vs planta com herbivoria) foram comparados utilizando teste T (para a comparação de dois tratamentos) quando os dados apresentaram distribuição normal e o teste Wilcox quando a distribuição dos dados diferiu da normal. Para comparar os COVs emitidos por plantas infestadas com 200 e 400 ácaros foi realizado um GLM seguido de ANOVA quando o número de réplicas dos tratamentos observados foram diferentes e realizado um teste T ou Wilcox quando os tratamentos possuíam o mesmo número de réplicas. Para verificar se havia diferença entre a quantidade total de voláteis emitida pelos tratamentos planta sadia vs planta com herbivoria, a média da emissão de cada composto em cada tratamento foi somada e em seguida foi realizado um teste T.

Os dados dos bioensaios de preferência olfativa foram analisados utilizando o teste binomial unicamente entre aqueles indivíduos que fizeram uma seleção. Todos os dados foram analisados no programa *R* (*R Development Core Team 2014*).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Identificação e quantificação dos compostos voláteis

As coletas de voláteis dos tratamentos planta sadia vs herbivoria (200 ácaros) e planta sadia vs herbivoria (400 ácaros) com plantas infestadas pelas três espécies de ácaros herbívoros levaram à identificação de 23 COVs pertencentes ao grupo dos monoterpenos, sesquiterpenos, aldeídos, oximas, éster e indole.

Dos 23 COVs identificados nos tratamentos com herbivoria, treze pertencem ao grupo dos terpenos ( $\alpha$ -pineno, d-limoneno, (Z)- $\beta$ -ocimeno, (E)- $\beta$ -ocimeno,  $\beta$ -linalol, trans-geranil acetona,  $\alpha$ -farneseno,  $\alpha$ -ylangeno, cariofileno, humuleno,  $\beta$ -copaene, geranil isovalerate e (E)-nerolidol), três ao grupo dos voláteis de folhas verdes (hexenal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexen-1-ol), um fenilpropanoide (salicilato de metila), dois aldeídos (nonanal e decanal), duas oximas (2-metil propanol oxima e 2-metil butanol oxima), um éster (metil anthranilate) e um indole.

Os primeiros voláteis emitidos pelos tecidos danificados, independentemente do agente causador do dano, são os voláteis de folhas verdes (Turlings *et al.*, 1998; Hoballah e Turlings, 2005). Esses compostos incluem alcoóis, aldeídos e ésteres produzidos quando as folhas são feridas ou sofrem estresses bióticos ou abióticos (Matsui, 2006). No entanto, os terpenoides, são produzidos em resposta aos danos causados pela herbivoria e geralmente são liberados não somente no tecido danificado, mas também em folhas sem danos, por meio da indução sistêmica na planta (Paré e Tumlinson, 1997). Os COVs podem atuar diretamente sobre os herbívoros, repelindo-os ou facilitando a localização da planta hospedeira (De Moraes *et al.*, 2001; Bruinsma *et al.*, 2007) ou ainda podem agir indiretamente através da atração de parasitóides e predadores (Arimura *et al.*, 2005).

#### 6.1.1 Identificação dos compostos voláteis após a herbivoria de *Mononychellus tanajoa*

Nas plantas infestadas com *M. tanajoa* foram identificados dez COVs (Tabela 1). No tratamento planta sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (200 ácaros) as concentrações dos COVs liberados pelas plantas sadias não diferiram quantitativamente dos COVs liberados pelas plantas submetidas à herbivoria ( $P > 0,05$ ), porém somente as plantas infestadas emitiram o composto cariofileno. No tratamento planta sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (400 ácaros) verificou-se diferença significativa na concentração de salicilato de metila ( $W=32$ ,  $P=0,026$ ) que foi emitido em maior quantidade pelas plantas infestadas com 400 ácaros. Nas plantas

submetidas à herbivoria (400 ácaros) foi observada também a emissão de hexenal e d-limoneno que não foram emitidos pelas plantas sadias. Para os demais COVs não foram encontradas diferenças significativas ( $P>0,05$ ).

Ao comparar os COVs emitidos por plantas infestadas com 200 e 400 ácaros *M. tanajoa* verificou-se um aumento na concentração de (*E*)-2-hexenal ( $F=5,34$ ,  $P=0,05$ ), salicilato de metila ( $F=5,30$ ,  $P=0,05$ ) e trans-geranil acetona ( $F=13,217$ ,  $P=0,006$ ) em plantas com 400 ácaros.

**Tabela 1.** Concentração dos voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com *Mononychellus tanajoa* nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200 ácaros) e Planta Sadia vs Herbivoria (400 ácaros).

| Compostos                 | Concentração (ng/g/h) |                  |               |                  |
|---------------------------|-----------------------|------------------|---------------|------------------|
|                           | Planta Sadia          | Herbivoria (200) | Planta Sadia  | Herbivoria (400) |
|                           | (n=4)                 | (n=4)            | (n=6)         | (n=6)            |
|                           | MD ± EP               |                  |               |                  |
| Hexenal                   | ---                   | ---              | ---           | 99,82 ± 64,94    |
| ( <i>E</i> )-2-hexenal    | 3,07 ± 2,06           | 0,55 ± 0,55      | 11,69 ± 10,62 | 7,86 ± 3,42*     |
| ( <i>Z</i> )-3-hexen-1-ol | 3,55 ± 3,14           | 3,47 ± 2,24      | 41,11 ± 41,11 | 11,55 ± 6,9      |
| α-pineno                  | 5,1 ± 5,1             | 10,55 ± 10,55    | 1,96 ± 1,96   | 62,67 ± 38,56    |
| d-limoneno                | 1,87 ± 1,46           | 1,25 ± 1,16      | ---           | 87,53 ± 68,98    |
| Nonanal                   | 7,04 ± 3,22           | 4,38 ± 1,97      | 11,65 ± 1,6   | 23,66 ± 10,4     |
| Salicilato de             | 3,71 ± 1,02           | 3,37 ± 1,23      | 11,47 ± 2,06  | 45,02 ± 20,66*   |
| Metila                    |                       |                  |               |                  |
| Decanal                   | 8,07 ± 4,51           | 4,97 ± 2,39      | 16,68 ± 2,47  | 19,31 ± 6,04     |
| Cariofileno               | ---                   | 1,27 ± 1,27      | 8,7 ± 3,95    | 8,38 ± 4,15      |
| Trans-geranil             | 8,81 ± 6,8            | 1,68 ± 0,97      | 20,34 ± 4,38  | 16,19 ± 4,07*    |
| acetona                   |                       |                  |               |                  |

n= número de réplicas; MD= média dos compostos emitidos; EP= erro padrão dos compostos emitidos; \*= diferença significativa (grau de significância  $P\leq 0,05$ ).

Um estudo anterior realizado com voláteis de mandioca relatou que plantas sadias emitiram cinco COVs em grandes quantidades, sendo eles 2-butanona, 3-pentanona, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexen-1-ol e (*E*)-2-hexen-1-ol. Nas plantas infestadas com *M. tanajoa* houve uma ligeira redução na emissão de (trans)-(*E*)-2-hexenal e um aumento na emissão de (*Z*)-3-



hexen-1-ol e os COVs (3*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, (*E*)-(trans)- $\beta$ -ocimeno, 4,8,12-trimetil-1,3 (*E*),7(*E*),11-tridecatetraeno, salicilato de metila, linalol e *O*-metiloxime-2-metilpropanal foram emitidos pelas plantas infestadas, mas em quantidades vestigiais pelas plantas sadias (Hountondji *et al.*, 2005). No presente estudo as plantas de mandioca emitiram diferentes COVs, sendo que os COVs emitidos em grandes quantidades pelas plantas sadias no estudo citado não foram identificados. De maneira semelhante ao encontrado por Hountondji *et al.* (2005), nas plantas infestadas por *M. tanajoa* houve redução na emissão de (*E*)-2-hexenal.

Os COVs liberados pelas plantas sadias e danificadas por herbivoria de *M. tanajoa* apresentam diferenças qualitativas e quantitativas, sendo que alguns compostos foram emitidos apenas após a herbivoria e outros foram emitidos em maior quantidade após o dano. Compostos como salicilato de metila, limoneno, linalol, ocimeno, cariofileno e farneseno são liberados, geralmente a partir de 24h após os danos causados pelos herbívoros (War *et al.*, 2011), podendo atrair inimigos naturais dos herbívoros (Dicke *et al.*, 1990). Assim como no tratamento planta sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (200 ácaros), a emissão de (*E*)- $\beta$ -cariofileno também foi relatada após a alimentação da larva do coleóptero *Diabrotica virgifera* em raízes de milho, o que levou a atração do nematóide *Heterorhabditis megidis*, não sendo encontrado no perfil de COVs liberados pelas plantas sadias (Rasmann *et al.*, 2005). Outro estudo demonstrou um aumento na emissão de diferentes compostos voláteis, entre eles o limoneno, a partir de plantas de couve *Brassica oleracea* sob herbivoria da lagarta da borboleta *Pieris rapae* em comparação às plantas sem dano ou danificadas mecanicamente (Shiojiri *et al.*, 2010).

Plantas com 400 ácaros *M. tanajoa* emitiram maiores quantidades de alguns compostos em comparação às plantas com 200 ácaros. O aumento na quantidade dos COVs emitidos após o aumento do dano do herbívoro também foi observado em estudos com plantas de feijão *P. lunatus* infestadas com *T. urticae*. Plantas ligeiramente infestadas (10 ácaros por folha) emitiram pequenas quantidades de (*Z*)-etilo-3-hexen-1-ol, salicilato de metila, (*E*)-DMNT e (*E,E*)-TMTT, enquanto nas plantas infestadas com 40 ácaros por folha pode-se observar um aumento de cerca de seis vezes na emissão dos compostos citados, além da emissão de 2-butanona, (*E*)- $\beta$ -ocimene, (*Z*)-DMNT e salicilato de etilo, que não foram emitidos pelas plantas com pouco dano (De Boer *et al.*, 2004).

### 6.1.2 Identificação dos compostos voláteis após a herbivoria de *Tetranychus urticae*

Nas plantas infestadas com *T. urticae* foram identificados 21 COVs (Tabela 2). No tratamento planta sadia vs herbivoria de *T. urticae* (200 ácaros) os COVs (*E*)- $\beta$ -ocimeno, geranil isovalerate,  $\alpha$ -farneseno e humuleno foram emitidos somente pelas plantas com herbivoria. Não foi observada diferença significativa entre as concentrações dos COVs emitidos pelas plantas sadias e com 200 ácaros *T. urticae* ( $P > 0,05$ ).

No tratamento planta sadia vs herbivoria de *T. urticae* (400 ácaros) foi observada diferença significativa na emissão de (*Z*)-3-hexen-1-ol ( $W=16$ ,  $P=0,026$ ), liberado em maior quantidade pelas plantas com herbivoria. Os compostos (*Z*)- $\beta$ -ocimeno ( $W=16$ ,  $P=0,021$ ), (*E*)- $\beta$ -ocimeno ( $W=16$ ,  $P=0,021$ ), saliciliato de metila ( $W=16$ ,  $P=0,021$ ),  $\alpha$ -farneseno ( $W=14$ ,  $P=0,069$ ), trans geranil acetona ( $W=16$ ,  $P=0,021$ ), cariofileno ( $W=12$ ,  $p=0,18$ ) e  $\beta$ -copaeno ( $W=10$ ,  $P=0,45$ ) foram emitidos somente pelas plantas com herbivoria. O composto decanal ( $W=0$ ,  $P=0,026$ ) foi emitido apenas pelas plantas sadias.

Ao comparar os COVs emitidos pelas plantas com 200 e 400 ácaros *T. urticae* foi observado um aumento na emissão de nonanal ( $t=4,2$ ,  $df=3,08$ ,  $P=0,023$ ) e saliciliato de metila ( $t=3,24$ ,  $df=3,12$ ,  $P=0,045$ ) pelas plantas infestadas com 400 ácaros. Os compostos hexenal, (*E*)-2-hexenal,  $\alpha$ -pineno, decanal, geranil isovalerate e humuleno foram emitidos apenas pelas plantas infestadas com 200 ácaros, enquanto os compostos (*Z*)- $\beta$ -ocimeno e  $\beta$ -copaeno foram emitidos apenas pelas plantas com 400 ácaros (Tabela 2).

De maneira semelhante, um estudo utilizando plantas de feijão observou que os compostos  $\alpha$ -farneseno, (*Z*)- $\beta$ -ocimeno, salicilato de metila e  $\beta$ -cariofileno foram identificados apenas na misturas de voláteis emitida pelas plantas de feijão infestadas com *T. urticae*, mas não estavam presentes na mistura de voláteis emitida pelas plantas sadias (Shimoda *et al.*, 2005).

**Tabela 2.** Concentração dos voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com *Tetranychus urticae* nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200 ácaros) e Planta Sadia vs Herbivoria (400 ácaros).

| Compostos          | Concentração (ng/g/h) |                  |              |                  |
|--------------------|-----------------------|------------------|--------------|------------------|
|                    | Planta Sadia          | Herbivoria (200) | Planta Sadia | Herbivoria (400) |
|                    | (n=4)                 | (n=4)            | (n=4)        | (n=4)            |
|                    | MD ± EP               |                  |              |                  |
| 2-metil propanol   |                       |                  |              | NQ               |
| oxima              |                       |                  |              |                  |
| Hexenal            | 2,79 ± 2,79           | 3,82 ± 2,45      | 1,12 ± 1,2   | ---              |
| (E)-2-Hexenal      | 1,14 ± 1,14           | 5,86 ± 3,71      | ---          | ---              |
| (Z)-3-hexen-1-ol   | 10,15 ± 3,64          | 7,67 ± 4,29      | 0,05 ± 0,05  | 3,73 ± 1,93*     |
| 2-metil butanol    |                       |                  |              | NQ               |
| oxima              |                       |                  |              |                  |
| α-pineno           | 4,01 ± 1,13           | 9,02 ± 8,2       | ---          | ---              |
| d-limoneno         | 13,81 ± 8,34          | 0,79 ± 0,79      | 1,19 ± 0,58  | 0,28 ± 0,04      |
| (Z)-β-ocimeno      | ---                   | ---              | ---          | 5,32 ± 2,46      |
| (E)-β-ocimeno      | ---                   | 3,04 ± 1,83      | ---          | 9,5 ± 4,39       |
| β-linalol          | 1,27 ± 1,27           | ---              | ---          | ---              |
| Nonanal            | 3,99 ± 1,36           | 3,03 ± 0,67      | 1,33 ± 0,66  | 0,22 ± 0,08      |
| Salicilato de      | 6,9 ± 2,08            | 5,13 ± 1,43      | ---          | 0,44 ± 0,21      |
| Metila             |                       |                  |              |                  |
| Decanal            | 3,18 ± 0,97           | 2,72 ± 0,63      | 1,71 ± 0,95  | ---              |
| Indole             |                       |                  |              | NQ               |
| Metil anthranilate |                       |                  |              | NQ               |
| α-farneseno        | ---                   | 6,15 ± 3,53      | ---          | 4,27 ± 1,89      |
| Geranil            | ---                   | 0,12 ± 0,12      | ---          | ---              |
| Isovalerate        |                       |                  |              |                  |
| Cariofileno        | 6,85 ± 4,09           | 12,54 ± 7,04     | ---          | 5,11 ± 5,06      |
| Trans-geranil      | 2,58 ± 1,81           | 6,26 ± 4,51      | ---          | 1,73 ± 0,92      |
| acetona            |                       |                  |              |                  |
| Humuleno           | ---                   | 4,04 ± 4,04      | ---          | ---              |
| β-copaeno          | ---                   | ---              | ---          | 0,3 ± 0,3        |
| (E)-nerolidol      |                       |                  |              | NQ               |

n= número de réplicas; MD= média dos compostos emitidos; EP= erro padrão dos compostos emitidos; NQ= não quantificado; \*= diferença significativa (grau de significância P≤0,05).

Após a herbivoria de *T. urticae* as plantas de mandioca emitiram os compostos (Z)- $\beta$ -ocimeno e (E)- $\beta$ -ocimeno, os quais não foram emitidos após a herbivoria de *M. tanajoa*. O composto (E)- $\beta$ -ocimeno é um dos voláteis mais comuns emitidos a partir de plantas em resposta a herbivoria (Paré e Tumlinson, 1999; Pichersky e Gershenzon, 2002). A emissão de desse composto foi observada em plantas de feijão após a herbivoria de *T. urticae* e sua liberação influencia a atração do ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* (Dicke *et al.*, 1990). Em outro estudo também foi observada a emissão de (Z)- $\beta$ -ocimeno e (E)- $\beta$ -ocimeno por plantas de feijão após a herbivoria de *T. urticae* e da lagarta da mariposa *Spodoptera exigua* (Horiuchi *et al.*, 2003).

Além dos dez compostos identificados e quantificados no conjunto de voláteis liberados pelas plantas infestadas com 400 *T. urticae*, os compostos 2-metil propanol oxima, 2-metil butanol oxima, indole, metil anthranilate e (E)-nerolidol também foram identificados, porém não foram quantificados. Esses compostos foram emitidos apenas pelas plantas infestadas com 400 *T. urticae*, não sendo liberados pelas plantas sadias ou infestadas com *M. tanajoa* ou *T. gloveri*.

O composto (E)-nerolidol foi identificado como um componente da mistura volátil induzido após a herbivoria de *T. urticae* em diversas plantas como tomate (Ament *et al.*, 2004), pepino e feijão-lima (Bouwmeester *et al.*, 1999) e gérbera (Krips *et al.*, 1999), podendo estar envolvido na atração de ácaros predadores. A enzima (3S)-(E)-nerolidol sintetase catalisa a formação do sesquiterpeno (3S)-(E)-nerolidol, provavelmente um intermediário na formação de 4,8-dimetil-1,3(E),7-nonatrieno (DMNT) (Degenhardt e Gershenzon, 2000). Foi demonstrado, por exemplo, que algumas espécies de planta como feijão e o lírio *Spathiphyllum wallisii* têm a capacidade de produzir o composto DMNT a partir de (3S)-(E)-nerolidol (Donath e Boland *et al.*, 1995).

Também foi demonstrado que plantas de milho sob herbivoria das lagartas de *S. frugiperda* e *S. exigua* liberam grandes quantidades de terpenos, incluindo (E)-nerolidol, e indole, que atraem a vespa parasita *Cotesia marginiventris* (Turlings *et al.*, 1995). Plantas de milho infestadas com a larva da mariposa *Pseudaletia separata* emitem compostos voláteis capazes de atrair a vespa parasita *C. kuriyai*, mas que não estão presentes na mistura emitida pelas plantas sem dano. Estes compostos incluem 2-metilbutanal *O*-metiloxima, 2-metilpropanal *O*-metiloxima e indole (Takabayashi *et al.*, 1995).

### 6.1.3 Identificação dos compostos voláteis após a herbivoria de *Tetranychus gloveri*

Nas plantas infestadas com *T. gloveri* foram identificados 14 COVs (Tabela 3). No tratamento planta sadia vs herbivoria de *T. gloveri* (200 ácaros) os COVs (*E*)- $\beta$ -ocimeno e  $\alpha$ -ylangeno foram emitidos apenas pelas plantas com herbivoria e humuleno apenas pelas plantas sadias. Nesse tratamento as plantas sob herbivoria liberaram maior quantidade de salicilato de metila (W=33, P=0,02) e os demais compostos não apresentaram diferenças significativas na emissão (P>0,05).

**Tabela 3.** Concentração dos voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com *Tetranychus gloveri* nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200) e Planta Sadia vs Herbivoria (400).

| Compostos                      | Concentração (ng/g/h) |                  |                   |                    |
|--------------------------------|-----------------------|------------------|-------------------|--------------------|
|                                | Planta Sadia          | Herbivoria (200) | Planta Sadia      | Herbivoria (400)   |
|                                | (n=6)                 | (n=6)            | (n=4)             | (n=4)              |
|                                | MD $\pm$ EP           |                  |                   |                    |
| (Z)-3-hexen-1-ol               | 2,45 $\pm$ 1,57       | 5,44 $\pm$ 4,49  | 18,56 $\pm$ 7,54  | 63,38 $\pm$ 35,46  |
| $\alpha$ -pineno               | ---                   | ---              | 6,32 $\pm$ 3,46   | 6,59 $\pm$ 3,9     |
| d-limoneno                     | 0,73 $\pm$ 0,73       | 1,76 $\pm$ 1,19  | ---               | 0,61 $\pm$ 0,45    |
| ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno | ---                   | 8,45 $\pm$ 3,83  | 6,84 $\pm$ 6,84   | 37,57 $\pm$ 37,57  |
| $\beta$ -linalol               | 0,56 $\pm$ 0,56       | 5,12 $\pm$ 2,36  | 1,09 $\pm$ 1,09   | 3,41 $\pm$ 3,41    |
| Nonanal                        | 3,33 $\pm$ 0,28       | 5,18 $\pm$ 1,45  | 7,82 $\pm$ 4,86   | 10,36 $\pm$ 3,44   |
| Salicilato de Metila           | 0,37 $\pm$ 0,16       | 2,84 $\pm$ 1,12* | 18,83 $\pm$ 12,59 | 43,32 $\pm$ 16,17* |
| Decanal                        | 5,53 $\pm$ 0,83       | 5,68 $\pm$ 0,88  | 5,93 $\pm$ 1,86   | 8,37 $\pm$ 1,45    |
| $\alpha$ -farneseno            | ---                   | ---              | 2,76 $\pm$ 2,76   | 12,11 $\pm$ 5,32   |
| $\alpha$ -ylangeno             | ---                   | 0,23 $\pm$ 0,23  | ---               | 0,38 $\pm$ 0,38    |
| Cariofileno                    | 2,14 $\pm$ 1,54       | 5,63 $\pm$ 1,37  | 4,73 $\pm$ 4,09   | 3,08 $\pm$ 2,69    |
| Trans-geranil acetona          | 2,73 $\pm$ 1,23       | 5,19 $\pm$ 1,18  | 2,4 $\pm$ 1,2     | 0,85 $\pm$ 0,49*   |
| Humuleno                       | 1,05 $\pm$ 1,05       | ---              | ---               | 1,02 $\pm$ 1,02    |
| $\beta$ -copaeno               | 0,77 $\pm$ 0,77       | 0,85 $\pm$ 0,85  | 2,63 $\pm$ 1,94   | 1,95 $\pm$ 1,95    |

n= número de réplicas; MD= média dos compostos emitidos; EP= erro padrão dos compostos emitidos; NQ= não quantificado; \*= diferença significativa (grau de significância P $\leq$ 0,05).

No tratamento planta sadia vs herbivoria de *T. gloveri* (200 ácaros) os COVs (*E*)- $\beta$ -ocimeno e  $\alpha$ -ylangeno foram emitidos apenas pelas plantas com herbivoria e humuleno apenas pelas plantas sadias. Nesse tratamento as plantas sob herbivoria liberaram maior quantidade de salicilato de metila ( $W=33$ ,  $P=0,02$ ) e os demais compostos não apresentaram diferenças significativas na emissão ( $P>0,05$ ). No tratamento planta sadia vs herbivoria (400) de *T. gloveri* houve indução dos COVs d-limoneno,  $\alpha$ -ylangeno e humuleno pelas plantas com herbivoria. Entre os compostos emitidos pelas plantas sadias e com herbivoria não houve diferença significativa na emissão ( $P>0,05$ ). Ao comparar os voláteis emitidos pelas plantas infestadas com 200 e 400 ácaros foi observado que os COVs  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -farneseno e humuleno foram emitidos apenas pelas plantas com 400 ácaros. Houve diferença significativa na emissão de salicilato de metila ( $F=7,32$ ,  $P=0,02$ ), liberado em maior quantidade pelas plantas com 400 ácaros, e trans geranil acetona ( $F=2e^{-04}$ ,  $P=0,001$ ), liberado em maior quantidade pelas plantas com 200 ácaros.

#### 6.1.4 Influência da densidade de herbívoros na emissão de compostos voláteis

A quantidade média de COVs emitida pelas plantas de mandioca sadias e submetidas a herbivoria das diferentes espécies de ácaros está discriminada na tabela 4.

**Tabela 4.** Concentração média (MD $\pm$ EP) do total de voláteis (ng/g/h) emitidos por plantas de mandioca infestadas com *Mononychellus tanajoa*, *Tetranychus urticae* e *Tetranychus gloveri* nos tratamentos Planta Sadia vs Herbivoria (200 ácaros) e Planta Sadia vs Herbivoria (400 ácaros).

| Espécie           | Concentração (ng/g/h) |                            |       |                  |                            |        |
|-------------------|-----------------------|----------------------------|-------|------------------|----------------------------|--------|
|                   | MD $\pm$ EP           |                            |       |                  |                            |        |
|                   | Sadia                 | Herbivoria<br>(200 ácaros) | P     | Sadia            | Herbivoria<br>(400 ácaros) | P      |
| <i>M. tanajoa</i> | 41,85 $\pm$ 5,83      | 31,5 $\pm$ 4,93            | 0,67  | 123,6 $\pm$ 10,8 | 382,0 $\pm$ 25,27          | 0,3    |
| <i>T. urticae</i> | 56,69 $\pm$ 4,48      | 70,20 $\pm$ 5,3            | 0,65  | 5,39 $\pm$ 2,76  | 30,88 $\pm$ 3,65           | 0,08   |
| <i>T. gloveri</i> | 19,65 $\pm$ 2,4       | 46,37 $\pm$ 3,41           | 0,04* | 77,90 $\pm$ 4,36 | 192,0 $\pm$ 3,94           | 0,016* |

MD= média dos compostos emitidos; EP= erro padrão; P= grau de significância ( $P<0,05$ )

Ao analisar a quantidade total dos COVs emitidos pelos tratamentos planta sadia vs planta com herbivoria de *M. tanajoa* foi observado um aumento na emissão de COVs por plantas danificadas por herbivoria com 400 ácaros, porém a quantidade total não diferiu entre os tratamentos sadia vs herbivoria (200) ( $t=-0,44$ ,  $df=5,50$ ,  $P=0,675$ ) e sadia vs herbivoria (400) ( $W=25$ ,  $P=0,31$ ) ou quando herbivoria (200) vs herbivoria (400) ( $F=3,89$ ,  $P=0,08$ ) foram comparados (Tabela 4).

Ao analisar a quantidade total de COVs emitidos pelos tratamentos planta sadia vs planta com herbivoria de *T. urticae* foi observado que apesar de haver uma diminuição na quantidade emitida pelas plantas infestadas com 400 ácaros em comparação às plantas com 200 ácaros não houve diferença significativa ( $t=1,6113$ ,  $df=4,2039$ ,  $P=0,179$ ). As plantas com herbivoria emitiram maior quantidade total de voláteis, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos sadia vs herbivoria (200 ácaros) ( $t=0,48$ ,  $df=5,599$ ,  $P=0,65$ ) e sadia vs herbivoria (400 ácaros) ( $t=2,4$ ,  $df=3,5903$ ,  $P=0,08$ ) (Tabela 4).

A quantidade total dos voláteis emitidos variou significativamente entre as plantas sadias e infestadas com *T. gloveri*, diferindo dos tratamentos anteriores onde a quantidade total de voláteis não apresentou diferença significativa entre as plantas sadias e com dano. Nos tratamentos sadia vs herbivoria (200 ácaros) ( $t=2,56$ ,  $df=7,0$ ,  $P=0,04$ ) e sadia vs herbivoria (400 ácaros) ( $t=3,44$ ,  $df=5,38$ ,  $P=0,016$ ) as plantas com dano emitiram maior quantidade de voláteis (Tabela 4). As plantas infestadas com 400 ácaros emitiram maior quantidade de voláteis em comparação às plantas infestadas com 200 ácaros, indicando que quanto maior o dano, maior a indução de voláteis ( $F=36,9$ ,  $P=0,0002$ ).

Embora não tenha sido encontrada diferença significativa na emissão total de plantas sob herbivoria de *M. tanajoa* e *T. urticae*, foi observado um aumento da quantidade total nas plantas com herbivoria em relação às sadias, com exceção do tratamento sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (200 ácaros) (Tabela 4). De maneira geral, a quantidade total do conjunto de COVs emitido variou proporcionalmente ao número de ácaros herbívoros presentes nas plantas, onde quanto maior a densidade, maior a quantidade de COVs emitidos. As plantas infestadas com 400 *T. urticae* emitiram menor quantidade de COVs em comparação às plantas com 200 *T. urticae*, porém o fato das coletas terem sido realizadas em dias distintos pode ter influenciado esse resultado.

O conjunto de COVs emitidos pelas plantas pode fornecer informações sobre o número de herbívoros que está se alimentando, pois a taxa de emissão muitas vezes está positivamente relacionada com a quantidade de dano infligido (Van Wijk *et al.*, 2008; Shiojiri

*et al.*, 2010). Portanto, como no presente estudo, a influência da densidade de herbívoros na quantidade de voláteis induzidos é relatada por diversos autores. Em um sistema tritrófico formado pelo ácaro *T. urticae*, plantas de feijão e o ácaro predador *P. persimilis*, foi demonstrado que a quantidade de COVs emitidos pela planta mudou em relação à variação na densidade do herbívoro e que a intensidade da resposta olfativa de *P. persimilis* está relacionada positivamente com a quantidade de voláteis emitida pela planta (Maeda e Takabayashi, 2001). Como em plantas de feijão, foi demonstrado que a atratividade de *P. persimilis* está positivamente relacionada à quantidade de dano de *T. urticae* em plantas de pepino (Kappers *et al.*, 2011). No sistema tritrófico envolvendo a lagarta da borboleta *P. rapae*, a couve *B. oleracea* e a vespa parasita *Cotesia glomerata* foi demonstrado que com o aumento da densidade de lagartas a quantidade total dos voláteis induzidos aumentou significativamente permitindo as vespas discriminarem os odores emitidos pelas plantas com diferentes densidades de herbívoros (Shiojiri *et al.*, 2010).

#### **6.1.5 Influência da espécie de herbívoro na emissão de compostos voláteis**

Quando as plantas de mandioca foram infestadas com as diferentes espécies de ácaros herbívoros verificaram-se diferenças na composição dos COVs emitidos e na quantidade dos compostos individuais.

Nos tratamentos com 200 ácaros, (Z)-3-hexen-1-ol,  $\alpha$ -pineno, d-limoneno, nonanal, salicilato de metila, decanal, cariofileno e trans-geranil acetona foram emitidos pelas plantas infestadas com as três espécies de ácaros herbívoros, porém não houve diferença significativa na emissão desses compostos ( $P>0,05$ ). Nos tratamentos com 400 ácaros, (Z)-3-hexen-1-ol ( $F=4,89$ ,  $P=0,03$ ),  $\alpha$ -pineno ( $F=3,78$ ,  $P=0,056$ ), d-limoneno ( $F=2,86$ ,  $P=0,09$ ), nonanal ( $F=5,08$ ,  $P=0,03$ ), salicilato de metila ( $F=4,3$ ,  $P=0,04$ ) e trans-geranil acetona ( $F=15,09$ ,  $P=0,0007$ ) foram emitidos pelas plantas infestadas com as três espécies de ácaros e somente o composto d-limoneno não apresentou diferença significativa na emissão. Os COVs (Z)- $\beta$ -ocimeno, 2-metil propanol oxima, 2-metil butanol oxima, indole, metil anthranilate e (E)-nerolidol foram emitidos apenas pelas plantas submetidas à herbivoria de *T. urticae* e o composto  $\alpha$ -ylangeno apenas pelas plantas com herbivoria de *T. gloveri*.

Diferentes espécies de herbívoros induzem a emissão de diferentes misturas de COVs na mesma espécie de planta (De Moraes *et al.*, 1998; De Boer *et al.*, 2004). Essas diferenças nos COVs emitidos podem ser causadas por elicitores específicos presentes nas secreções orais aplicadas pelos herbívoros durante a alimentação (McCormick *et al.*, 2012). Diversos



estudos observaram que quando as plantas são atacadas por diferentes espécies de herbívoros diferentes misturas de COVs são liberadas em resposta ao dano. A composição das misturas voláteis emitidas por folhas de maçã infestadas pelo ácaro *T. urticae* ou *Panonychus ulmi* apresentou diferenças quantitativas, sendo que os COVs conhecidos por atraírem o ácaro predador *P. persimilis* foram encontrados nas duas misturas, porém em quantidades diferentes (Takabayashi *et al.*, 1991). Plantas de feijão *P. lunatos* emitem conjuntos de COVs que diferem na composição e quantidade quando infestadas com o ácaro *T. urticae* ou a lagarta *S. exigua* (De Boer *et al.*, 2004). Os voláteis emitidos a partir de plantas de couve *B. oleracea* infestadas com a traça *Plutella xylostella* e a partir das plantas sadias foram semelhantes qualitativamente, mas apresentaram diferenças quantitativas. A vespa parasitóide *Diadegma semiclausum* foi atraída pelas plantas de couve infestadas, evidenciando que consegue diferenciar as misturas de odor com base em diferenças sutis na composição de voláteis (Bukovinszky *et al.*, 2005).

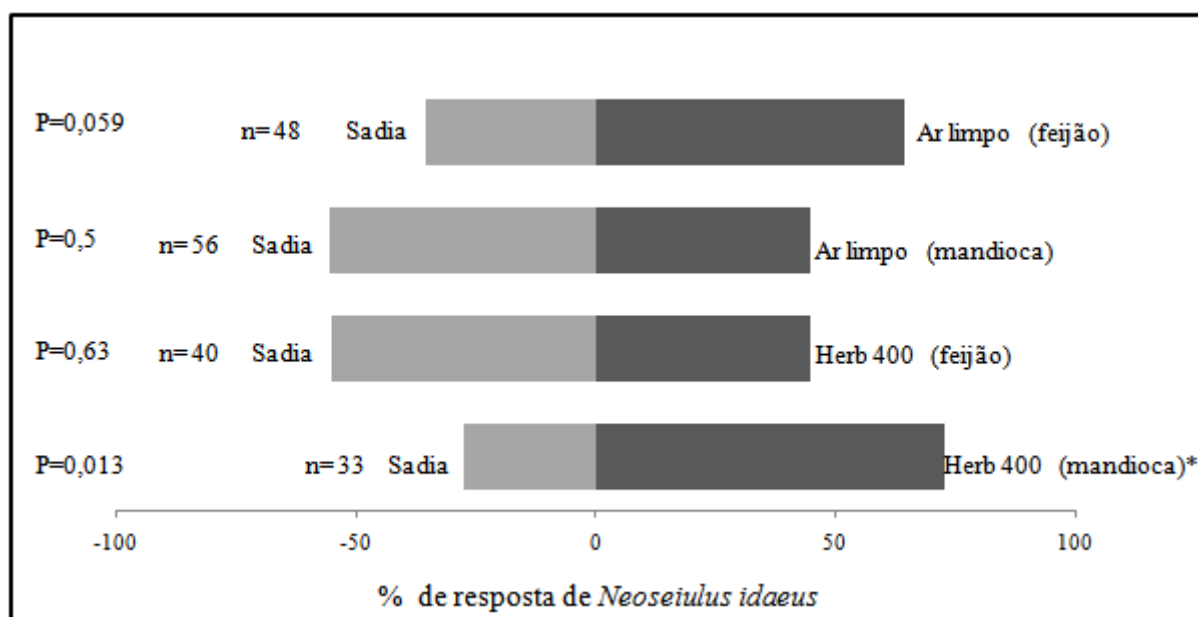
No presente estudo pode-se verificar que as plantas infestadas com o ácaro-verde-da-mandioca, que possui hábito especialista, emitiram menos compostos do que as plantas infestadas com os ácaros rajado e vermelho, ambos generalistas (Tabelas 1, 2 e 3). Alguns estudos sugerem que diferenças na especialização alimentar dos herbívoros podem influenciar a expressão de defesas das plantas. Os herbívoros generalistas se alimentam de uma vasta gama de plantas, enquanto os especialistas estão associados a algumas espécies estreitamente relacionadas ou a uma única planta (Voelckel e Baldwin, 2004). Acredita-se que os herbívoros especialistas devem ser menos impactados por um determinado tipo de defesa em comparação com um generalista (Whittaker e Feeny, 1971; Agrawal, 2000), pois muitos possuem adaptações fisiológicas para lidar com as defesas da planta, permitindo maior tolerância, como a capacidade de sequestrar compostos de defesa das plantas para sua própria defesa (Després *et al.*, 2007). Como os generalistas são tipicamente mais sensíveis às toxinas, acredita-se que possam suprimir as respostas induzidas da planta, enquanto os especialistas devem minimizar a indução de altos níveis de defesa direta (Ali e Agrawal, 2012), porém pouco se sabe sobre a influência da especialização alimentar na emissão de COVs. Presume-se que a indução das defesas indiretas, como o aumento na emissão de COVs e na produção de néctar extrafloral, seja maior pelos herbívoros generalistas e por aqueles que não possuem a capacidade de sequestrar os compostos de defesa das plantas (Ali e Agrawal, 2012).

Possivelmente, o ácaro-verde-da-mandioca, por ser especialista e estar adaptado aos diferentes mecanismos de defesa da mandioca e que co-evoluiu com a cultura, induz a

emissão de menos compostos envolvidos na defesa indireta da planta, em comparação aos ácaros rajado e vermelho.

## 6.2 Preferência olfativa do ácaro predador *Neoseiulus idaeus*

Nos ensaios em que foi testada a preferência olfativa do predador *N. idaeus*, com experiência em plantas de mandioca, sobre planta sadia vs herbivoria de 400 *T. urticae* os ácaros preferiram as plantas com herbivoria em comparação às plantas sadias ( $P=0,013$ ) (Figura 12). Nos demais testes realizados com o predador com experiência em mandioca, não foram encontradas diferenças significativas, sendo ar limpo vs planta sadia ( $P=0,5$ ), planta sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (200 ácaros) ( $P=0,25$ ), planta sadia vs herbivoria de *T. gloveri* (200 ácaros) ( $P=0,61$ ), planta sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (400 ácaros) ( $P=0,28$ ) e planta sadia vs herbivoria de *T. gloveri* (400 ácaros) ( $P=0,63$ ).



**Figura 11.** Porcentagem da preferência olfativa de *Neoseiulus idaeus*, com experiência em mandioca e feijão, em olfatômetro em “Y” aos voláteis de *Manihot esculenta* sem dano ou com herbivoria de 400 *Tetranychus urticae*. n= número de respostas. \*= resposta significativa ( $P<0,05$ ).

Plantas infestadas com 400 ácaros *T. urticae* emitiram compostos que não foram liberados pelas plantas infestadas com os outros ácaros herbívoros. Provavelmente esses

COVs induzidos pela herbivoria de 400 ácaros ((Z)- $\beta$ -ocimeno, 2-metil propanol oxima, 2-metil butanol oxima, indole, metil anthranilate e (E)-nerolidol) estão envolvidos na atração do ácaro predador, demonstrando a especificidade dos COVs induzidos e a influência da densidade de herbívoros na emissão, uma vez que as plantas com 200 ácaros *T. urticae* e com os outros ácaros não liberaram esses compostos. Esses compostos estão envolvidos na atração de vespas parasitas a plantas de milho com herbivoria das lagartas *S. frugiperda*, *S. exigua* e *Pseudaletia separata* (Turlings *et al.*, 1995; Takabayashi *et al.*, 1995). Krips *et al.*, (1999) demonstraram que plantas de gérbera *Gerbera jamesonii* sob herbivoria de *T. urticae* emitem (E)-nerolidol, (Z)- $\beta$ -ocimene, (E)- $\beta$ -ocimene, O-metil-2-metilpropanaldoxima, O-metil-2-metilbutanaldoxima, 2-metilpropanaldoxime, indole, entre outros compostos, que não são emitidos pelas plantas sadias e influenciam a atração do ácaro predador *P. persimilis*.

Estudos realizados com *N. idaeus* têm avaliado a sua capacidade como predador de diversos ácaros que atacam diferentes culturas, como soja (Reichert *et al.*, 2016), mamão (Collier *et al.*, 2007), feijão (Collier *et al.*, 2007) e mandioca (Moraes *et al.*, 1994). Seu potencial para o controle de ácaros herbívoros pode ser exemplificado pelo sucesso da sua introdução em Benin, África, para o controle do ácaro-verde-da-mandioca (Yaninek *et al.*, 1991). Apesar do sucesso da sua introdução na África, no presente estudo não foi observada preferência do predador entre plantas infestadas com o ácaro-verde-da-mandioca e plantas sadias. Semelhantemente, Janssen *et al.* (1990) não encontraram diferença significativa na preferência de *N. idaeus* entre plantas de mandioca infestadas com ácaro-verde-da-mandioca e ar limpo.

A preferência do ácaro predador aos COVs induzidos pela herbivoria de *T. gloveri* não havia sido observada em estudos anteriores.

Entre os COVs emitidos pelas plantas submetidas à herbivoria das três espécies estão cariofileno, d-limoneno,  $\alpha$ -farneseno, (E)- $\beta$ -ocimeno,  $\alpha$ -pineno e salicilato de metila. O salicilato de metila faz parte da mistura de voláteis induzidos pela alimentação de *T. urticae* em uma variedade de espécies de plantas (Van den Boom *et al.*, 2004) e tem sido relatado como um composto atraente para ácaros predadores (Dicke *et al.*, 1990; De Boer e Dicke, 2004). Esses compostos são conhecidos por atraírem ácaros predadores, porém nos experimentos realizados com o ácaro-verde-da-mandioca e o ácaro-vermelho não foi observada preferência do predador pelas plantas infestadas, sugerindo que o nível de indução não foi suficiente para atrair *N. idaeus* ou esses ácaros herbívoros não são atraentes para o predador.

Ao testar a preferência do predador com experiência em plantas de feijão não houve diferença significativa nas respostas em nenhum dos testes analisados: planta sadia vs ar limpo ( $P=0,059$ ), planta sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (200 ácaros) ( $P=0,14$ ), planta sadia vs herbivoria de *T. gloveri* (200 ácaros) ( $P=1$ ), sadia vs herbivoria de *M. tanajoa* (400 ácaros) ( $P=1$ ), planta sadia vs herbivoria de *T. urticae* (400 ácaros) ( $P=0,63$ ) e planta sadia vs herbivoria de *T. gloveri* (400 ácaros) ( $P=1$ ). Ao observar a preferência do predador sobre plantas sadias vs ar limpo foi verificado que a maioria dos ácaros (64,58%) preferiu o ar limpo, mas não houve diferença significativa na resposta ( $P=0,059$ ).

A tendência do predador para o ar limpo quando comparado com a planta sadia mostra que a planta sozinha não emite voláteis que são atraentes para o predador, pois não indicam a presença do herbívoro. Resultado semelhante foi encontrado ao testar a preferência olfativa do ácaro predador *Phytoseiulus macropilis* sobre o ar limpo e a planta sadia, sugerindo que as pistas emitidas por plantas não atacadas sinalizam ao predador a ausência de uma presa e levam a procurar em outro lugar (Fadini *et al.*, 2010).

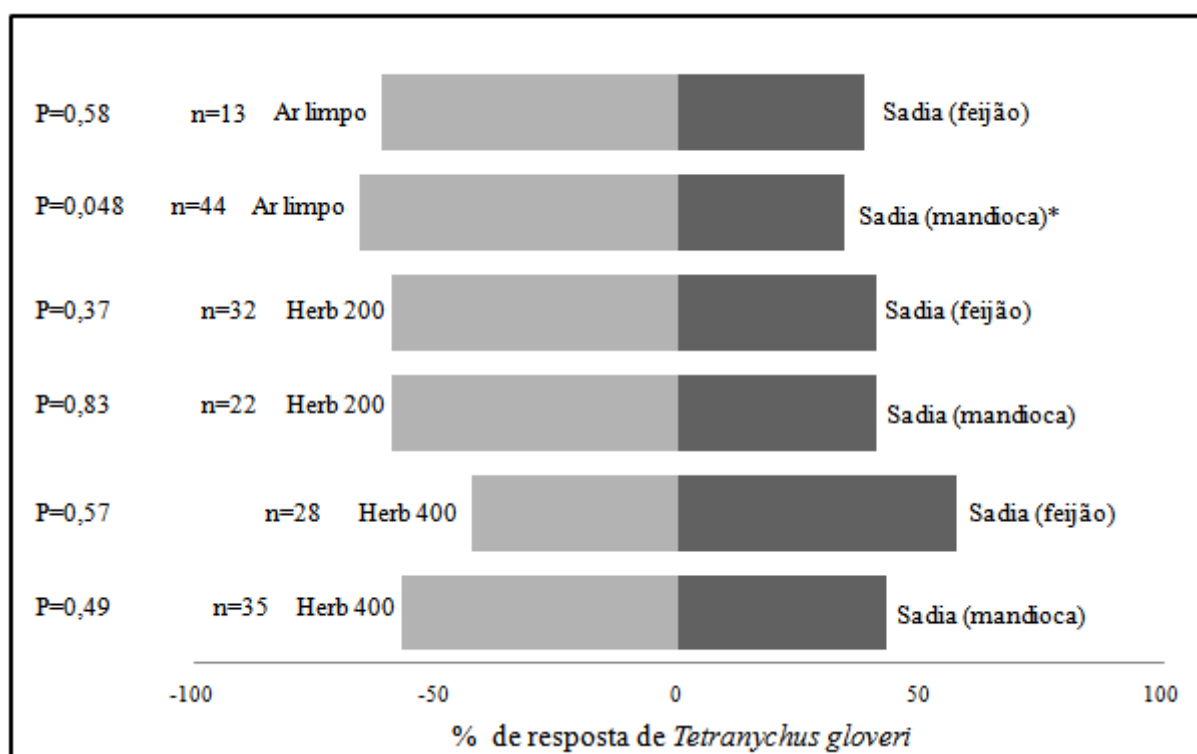
Ao testar a preferência olfativa do predador com experiência em plantas de feijão sobre os odores emitidos por plantas sadias e danificadas por herbivoria dos diferentes ácaros herbívoros nas densidades de 200 e 400 não foi observada preferência entre as duas fontes de odor. Estudos anteriores demonstraram que o ácaro *P. persimilis* criados na ausência de odores da planta de feijão infestadas com *T. urticae* não preferem os odores de plantas infestadas sobre os de plantas sadias (Drukker *et al.*, 2000). A alimentação prolongada, durante 24h ou mais na presença das misturas de COVs induzidos por herbivoria pode induzir uma preferência olfativa por esses voláteis (Drukker *et al.* 2000; De Boer e Dicke, 2004; De Boer *et al.*, 2005). *Phytoseiulus persimilis* é capaz de adaptar a sua resposta olfativa com base na experiência. Outros experimentos constataram que *P. persimilis* criados em plantas de feijão infestadas com *T. urticae* preferem o odor de plantas de feijão com o ácaro sobre o odor de plantas de pepino com o mesmo ácaro e que esta preferência muda gradualmente para uma preferência para plantas de pepino com *T. urticae* quando os predadores são mantidos por um período de sete dias em plantas de pepino infestadas (Dicke *et al.*, 1990).

As respostas comportamentais dos predadores aos voláteis induzidos por herbivoria são flexíveis e a composição da mistura de COVs pode ter um grande impacto (Takabayashi *et al.*, 1991, Turlings *et al.*, 1993). Mudanças nas proporções dos componentes da mistura podem afetar se um predador será atraído ou não (Sabelis e Dicke, 1985; Takabayashi *et al.*, 1991). Sendo assim, ao estudar os compostos voláteis, a demonstração da presença de um

composto é um primeiro passo para mostrar se um determinado tratamento pode induzir a defesa. A evidência final será uma demonstração de que o predador é atraído pelos compostos induzidos (Dicke *et al.*, 1999).

### 6.3 Preferência olfativa do ácaro herbívoro *Tetranychus gloveri*

Ao testar a preferência olfativa do ácaro herbívoro *T. gloveri*, com experiência em plantas de mandioca, sobre planta sadia vs ar limpo foi observado que os ácaros tiveram preferência pela planta sadia ( $P=0,048$ ) (Figura 13), sugerindo que as plantas emitem voláteis que são atraentes para os herbívoros. Não foram encontradas diferenças significativas nos demais testes realizados, sendo planta sadia vs herbivoria (200) de *T. gloveri* ( $P=0,83$ ) e planta sadia vs herbivoria (400) de *T. gloveri* ( $P=0,49$ ). Semelhantemente ao ácaro predador, não houve diferença significativa na preferência olfativa de *T. gloveri* com experiência em plantas de feijão, sendo planta sadia vs ar limpo ( $P=0,58$ ), planta sadia vs herbivoria (200) de *T. gloveri* ( $P=0,37$ ) e planta sadia vs herbivoria (400) de *T. gloveri* ( $P=0,57$ ) (Figura 13).



**Figura 12.** Porcentagem de resposta olfativa de *Tetranychus gloveri* em olfatômetro em “Y” aos voláteis de *Manihot esculenta* sem dano ou com herbivoria de coespecíficos. n= número de respostas \*= resposta significativa ( $P<0,05$ ).

Não foram encontradas diferenças significativas na preferência olfativa de *T. gloveri* criado em mandioca na escolha entre planta sadia e herbivoria nas diferentes densidades. No presente trabalho as plantas de mandioca inteiras foram infestadas com 200 e 400 ácaros, sendo 100 e 150 por folha e os produtos como fezes, exúvias e teias foram mantidos. Os resultados encontrados são semelhantes aos dados encontrados por Horiuchi *et al.* (2003) ao testar a preferência de *T. urticae* à folhas de feijão moderadamente infestadas (100 ácaros por folha) e infestadas com 100 ou 1.500 ácaros e seus produtos em comparação à plantas sadias. Foi observado que não houve diferença significativa na preferência de *T. urticae* entre folhas moderadamente infestadas e não infestadas e também não houve diferença na preferência entre os voláteis de plantas com 100 ou 1.500 ácaros, seus produtos associados e folhas não infestadas (Horiuchi *et al.*, 2003).

O primeiro estudo a respeito das respostas de herbívoros aos voláteis induzidos por herbivoria relatou que *T. urticae* se dispersava de voláteis emitidos por plantas de feijão infestadas com co-específicos (Dicke, 1986). Em outro estudo foi demonstrado que *T. urticae* tem preferência por plantas de algodão sadias em comparação às plantas infestadas (Harrison e Karban, 1986). Em oposição, outros experimentos relataram que *T. urticae* tem uma ligeira preferência por plantas de pepino infestadas por co-específicos (Pallini *et al.*, 2003).

Ao analisar os voláteis emitidos por plantas sadias e infestadas com *T. gloveri* foi observado que não houve diferença significativa na emissão dos compostos comuns aos tratamentos planta sadia e herbivoria. As plantas com 200 ácaros emitiram (*E*)- $\beta$ -ocimeno, geranil isovalerate,  $\alpha$ -farneseno e humuleno, e as plantas com 400 ácaros emitiram d-limoneno,  $\alpha$ -ylangeno e humuleno, porém essa emissão não influenciou a resposta dos herbívoros.

Foi observado que *T. gloveri* com experiência em plantas de feijão não consegue diferenciar os odores provenientes de plantas de mandioca sadias e ar limpo ou plantas de mandioca sadias e infestadas com herbívoros. Como citado anteriormente, estudos demonstram que o ácaro *P. persimilis* criados na ausência de odores da planta não preferem os odores de plantas infestadas sobre os de plantas sadias (Drukker *et al.*, 2000). Possivelmente *T. gloveri* não conseguiu diferenciar as fontes de odor, pois não foi capaz de reconhecer o conjunto de voláteis emitidos pelas plantas de mandioca, uma vez que foram criados em plantas de feijão.

## 7 CONCLUSÃO

Plantas de mandioca emitem COVs em resposta à herbivoria dos ácaros *M. tanajoa*, *T. urticae* e *T. gloveri* que diferem qualitativa e quantitativamente daqueles liberados pelas plantas sadias, sendo que a quantidade total emitida aumenta com a densidade de ácaros presentes na planta.

Apenas as plantas sob herbivoria de *T. urticae* emitiram os compostos (Z)- $\beta$ -ocimeno, 2-metil propanol oxima, 2-metil butanol oxima, indole, metil anthranilate e (E)-nerolidol. Esses compostos provavelmente estão envolvidos na atração de *N. idaeus*, uma vez que o predador com experiência em mandioca preferiu significativamente as plantas infestadas com *T. urticae* em comparação às plantas sadias.

Apesar da emissão de COVs conhecidos por atraírem ácaros predadores pelas plantas infestadas com *M. tanajoa* e *T. gloveri*, *N. idaeus* não preferiu as plantas infestadas, sugerindo que o nível de indução não foi suficiente ou esses ácaros herbívoros não são atraentes para o predador.

Uma vez que o *N. idaeus* com experiência em mandioca mostrou preferência apenas pelas plantas com 400 *T. urticae* e os predadores com experiência em feijão não demonstraram preferência pelas diferentes fontes de odor, sugere-se a aprendizagem associativa do predador.

*Tetranychus gloveri* com experiência em mandioca preferiu plantas de mandioca sadias em comparação ao ar limpo, demonstrando que a planta produz voláteis atraentes para esses herbívoros. No entanto, este ácaro não responde a plantas infestadas com coespecíficos.

Ainda não existiam estudos que relatassem a influencia da herbivoria de *T. gloveri* sobre os voláteis de mandioca e o comportamento de *N. idaeus*. Dessa maneira, é necessário que estudos posteriores sejam realizados a fim de adquirir mais informações a respeito do sistema tritrófico ácaros fitófagos – mandioca - ácaro predador e entender como os voláteis envolvidos nessas interações influenciam o comportamento desses artrópodes.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal, A. A. Benefits and costs of induced plant defense for *Lepidium virginicum* (Brassicaceae). *Ecology*, 81:1804-1813, 2000.
- Agrawal, A. A. Current trends in the evolutionary ecology of plant defense. *Functional Ecology*, 25(2):420–32, 2010.
- Aguiar-Menezes, E. L.; Menezes, E. B. Bases ecológicas das interações entre insetos e plantas no manejo ecológico de pragas agrícolas. In: Aquino, A. M.; Assis, R. L. (Ed.). *Agroecologia: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.324-339, 2005.
- Alborn, H. T.; Turlings, T. C. J.; Jones, T. H.; Stenhagen, G.; Loughrin, J. H.; Tumilson, J. H. An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, 276:945-949, 1997.
- Ali, J. G.; Agrawal, A. A. Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in Plant Science*, 17:293–302, 2012.
- Ament, K.; Kant, M. R.; Sabelis, M. W.; Haring, M. A.; Schuurink, R. C. Jasmonic acid is a key regulator of spider mite-induced volatile terpenoid and methyl salicylate emission in tomato. *Plant Physiology*, 135(4):2025-2037, 2004.
- Arimura, G.; Ozawa, R.; Shimoda, T.; Nishioka, T.; Boland, W.; Takabayashi, J. Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*, 406(6795):512-515, 2000.
- Arimura, G.; Ozawa, R.; Nishioka, T.; Boland, W.; Koch, T.; Kühnemann, F.; Takabayashi, J. Herbivore-induced volatiles induce the emission of ethylene in neighboring lima bean plants. *The Plant Journal*, 29:87-98, 2002.
- Arimura, G.; Kost, C.; Boland, W. Herbivore-induced, indirect plant defense. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1734: 91-111, 2005.
- Arimura, G.; Matsui, K.; Takabayashi, J. Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. *Plant and Cell Physiology*, 50(5):911-923, 2009.



- Azeredo, E. H.; Perruso, J. C.; Menezes, E. B.; Cassino, P. C. R. Utilização de *Brassica oleracea* (L.) como planta atrativa simultânea de *Myzus persicae* (Sulzei, 1776) e *Cycloneda sanguinea*, (Linnaeus, 1763) em área de cultivo de batata (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Universidade Rural*, 24(2):89-95, 2004.
- Baldwin, I. T.; Halitschke, R.; Kessler, A.; Schittko, U. Merging molecular and ecological approaches in plant – insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 4:351-358, 2001.
- Baverstock, J.; Elliot, S. L.; Alderson, P. G.; Pell, J. K. Response of the entomopathogenic fungus *Pandora neoaphidus* to aphid-induced plant volatiles. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89(2):157–164, 2005.
- Bellotti, A. C.; Reyes, J. A.; Guerrero, J. M. *Acaros presents en el cultivo de la yuca y su control*. Cali: CIAT, p.36, 1982.
- Bellotti, A. C.; Guerrero, J. M. Seleccin varietal en yuca para resistencia al ataque de acaros *Tetranychus urticae* y *Mononychellus tanajoa*. In: Reyes, J. A. (Ed.) *Yuca: control integrado de plagas*. Cali: CIAT, p.195-210, 1983.
- Bellotti, A. C.; Arias, B. V.; Vargas, O. H.; Reyes, J. A. Q.; Guerrero, J. M. Insectos y ácaros da ñinos a layuca y sucontrol. In: Ospina, B.; Ceballos, H. (Ed.) *La yucaen El tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilizacion y comercialización*, n. 327, 586p, 2002.
- Bernasconi, M. L.; Turlings, T. C. J.; Ambrosetti, L.; Bassetti, P.; Dorn, S. Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 87:133–142, 1998.
- Bertschy, C.; Turlings, T. C. J.; Bellotti, A. C.; Dorn, S. Chemically-mediated attraction of three parasitoid species to mealybug-infested cassava leaves. *The Florida Entomologist*, 80(3):83-395, 1997.
- Bouwmeester, H. J.; Verstappen, F. W. A.; Posthumus, M. A.; Dicke, M. Spider mite-induced (3S)-(E)-nerolidol synthase activity in cucumber and lima bean. The first dedicated step in acyclic C11-homoterpene biosynthesis. *Plant Physiology*, 121(1):173–180, 1999.

- Bruinsma, M.; Van Dam, N. M.; Van Loon, J. J. A.; Dicke, M. Jasmonic acid-induced changes in *Brassica oleracea* affect oviposition preference of two specialist herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 33(4):655–668, 2007.
- Bukovinszky, T.; Gols, R.; Posthumus, M. A.; Vet, L. E.; Van Lenteren, J. C. Variation in plant volatiles and attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Hellén). *Journal of Chemical Ecology*, 31(3):461-480, 2005.
- Çakmak, I.; Janssen, A.; Sabelis, M. W. Intraguild interactions between the predatory mites *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus persimilis*, *Experimental and Applied Acarology*, 38(1):33-46, 2006.
- Carmona, M. M.; Dias, J. C. S. *Fundamentos de acarologia agrícola*. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 424p, 1996.
- Cavalcanti, M. G.; Vilela, E. F.; Eiras, A. E.; Zanuncio, J. C.; Picançu, M. C. Interação Tritrófica entre *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), *Eucalyptus* e lagartas de *Thyrintea arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae). *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira*, 29:697-703, 2000.
- Chen, M. S. Inducible direct plant defense against insect herbivores: a review. *Insect Science*, 15:101-114, 2008.
- Collier, K. F. S.; Albuquerque, G. S.; de Lima, J. O. G.; Pallini, A.; Molina-Rugama, A. J. *Neoseiulus idaeus* (Acari: Phytoseiidae) as a potential biocontrol agent of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in papaya: performance on different prey stage – host plant combinations. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 41:27-36, 2007.
- Crofti, B. A.; Blackwood, J. S.; McMurtry, J. A. Classifying life-style types of phytoseiid mites: diagnostic traits. *Experimental and Applied Acarology*, 33(4):247-260, 2004.
- De Boer, J. G.; Dicke, M. Experience with methyl salicylate affects behavioral responses of a predatory mite to blends of herbivore-induced plant volatiles. *Entomologia Experimentalis Applicata*, 110:181–189, 2004.

De Boer, J. G.; Snoeren, T. A. L.; Dicke, M. Predatory mites learn to discriminate between plant volatiles induced by prey and nonprey herbivores. *Animal Behaviour*, 69(4):869–879, 2005.

Degenhardt, J.; Gershenzon, J. Demonstration and characterization of (E)-nerolidol synthase from maize: a herbivore-inducible terpene synthase participating in (3E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene biosynthesis. *Planta*, 210(5):815-822, 2000.

De Moraes, C.; Lewis, W.; Pare, P.; Alborn, H.; Tumlinson, J. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* 393:570-573, 1998.

De Moraes, C. M.; Mescher, M. C.; Tumlinson, J. H. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature*, 410:577–579, 2001.

Department of Agriculture and Fisheries, Queensland Government. *Cotton red spider mite*, 2010. Disponível em:< <https://www.daf.qld.gov.au/plants/health-pests-diseases/a-z-significant/cotton-red-spider-mite-or-glover-mite>>

Dicke, M. Volatile spider-mite pheromone and host-plant kairomone, involved in spaced-out gregariousness in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Physiological Entomology*, 11(3):251-262, 1986.

Dicke, M.; Van Beek, T. A.; Posthumus, M. A.; Ben Don, N.; VanBokhoven, H.; De Groot, A. E. Isolation and identification of a volatile kairomone that affects acarine predator-prey interaction: Involvement of host plant in its production. *Journal of Chemical Ecology*, 16:381–396, 1990.

Dicke M. Are herbivore-induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91:131–142, 1999.

Dicke, M.; Gols, R.; Ludeking, D.; Posthumus, M. A. Jasmonic acid and herbivory differentially induce carnivore-attracting plant volatiles in lima bean plants. *Journal of Chemical Ecology*, 25(8):1907-1922, 1999.

- Dicke, M.; Vet, L. E. M. Plant-carnivore interactions: evolutionary and ecological consequences for plant, herbivore and carnivore. In: Olff, H.; Brown, V. K.; Drent, R. H. (Ed.). *Herbivores: Between Plants and Predators*. p.483–520, 1999.
- Dicke, M.; Van Loon, J. J. A. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97:237–249, 2000.
- Dicke, M.; Agrawal, A. A.; Bruin, J. Plants talk, but are they deaf? *Trends in Plant Science*, 8(9):403-405, 2003.
- Dicke, M. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant, Cell and Environment*, 32(6):654–665, 2009.
- Donath, J.; Boland, W. Biosynthesis of acyclic homoterpenes: enzyme selectivity and absolute configuration of the nerolidol precursor. *Phytochemistry*, 39(4):785–790, 1995.
- Drukker, B.; Bruin, J.; Jacobs, G.; Kroon, A.; Sabelis, M. W. How predatory mites learn to cope with variability in volatile plant signals in the environment of their herbivorous prey. *Experimental and Applied Acarology*, 24(12):881–895, 2000.
- Dudareva, N.; Pishersky, E.; Gershenzon, J. Biochemistry of Plant Volatiles. *Plant Physiology*, 135(4):1893–1902, 2004.
- Dudareva, N.; Negre, F.; Nagegowda, D. A.; Orlova, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25:417–440, 2006.
- Dudareva, N.; Pichersky, E. Metabolic engineering of floral scent of ornamentals. *Journal of Crop Improvement*, 18:325–346, 2006.
- Embrapa, 2006. *Aspectos Socioeconômicos e Agronômicos da Mandioca*. Cruz das Amas, Bahia. Ed. 1, p. 71.
- Fadini, M. A. M.; Venzon, M.; Oliveira, H.; Pallini, A.; Vilela, E. F. Response of the predatory mite *Phytoseiulus macropilis* (Banks) to volatiles produced by strawberry plants in response to attack by Tetranychid mites (Acari: Phytoseiidae: Tetranychidae). *Neotropical Entomology*, 39(2):248-252, 2010.

Ferla, N. J.; Marchetti, M. M.; Gonçalves, D. Ácaros predadores (Acari) associados à cultura do morango (*Fragaria* sp., Rosaceae) e plantas próximas no estado do Rio Grande do Sul. *Biota Neotropica*, 7(2):1-8, 2007.

Flechtmann, C. H. W. *Ácaros de importância agrícola*. São Paulo: Nobel, 1985.

Flechtmann, C. H. W. Cariótipos de ácaros tetraniquídeos do Brasil (Acari, Prostigmata, Tetranychidae). *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, 39:803-808, 1982.

Flechtmann, C. H. W. *Elementos de Acarologia*. São Paulo: Nobel, 1975.

Fokuda, C.; Otsubo, A. A. *Desempenho da mandioca nos países produtores*. Embrapa Mandioca e Fruticultura: Sistemas de produção. n.7, 2003.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Food Outlook*: biannual report on global food markets, 2016.

Fukuda, W. M. G.; Saad, N. *Pesquisa participativa em melhoramento de mandioca com agricultores do Nordeste do Brasil*. Cruz das Almas, BA. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 48p, 2001.

Funk, C. J. Alkaline phosphatase activity in whitefly salivary glands and saliva. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 46(6):165-74, 2001.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R. P. L.; Baptista, G. C.; Berti Filho, E.; Parra, J. R. P.; Zuchi, R. A.; Alves, S. B.; Vendramim, J. D.; Marchin, L. C.; Lopes, J. R. S.; Omoto, C. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 920 p, 2002.

Gnanvossou, D.; Hanna, R.; Dicke, M.; Yaninek, S. J. Attraction of the predatory mites *Typhlodromalus manihoti* and *Typhlodromalus aripo* to cassava plants infested by cassava green mite. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101: 291–298, 2001.

Harisson, S.; Karban, H. Behavioural response of spider mites (*Tetranychus urticae*) to induced resistance of cotton plants. *Ecological Entomology*, 11(2):181-188, 1986.

Hoballah, M. E.; Turlings, T. C. J. The role of fresh versus old leaf damage in the attraction of parasitic wasps to herbivore-induced maize volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 31(9):2003–2018, 2005.

- Horiuchi, J.; Ozawa, R.; Arimura, G.; Nishioka, T. A comparison of the responses of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) to volatiles emitted from lima bean leaves with different levels of damage made by *T. urticae* or *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*, 38(1):109-116, 2003.
- Hountondji, F. C. C.; Sabelis, M. W.; Hanna, R.; Janssen, A. Herbivore-induced plant volatiles trigger sporulation in entomopathogenic fungi: the case of *Neozygites tanajoae* infecting the cassava green mite. *Journal of Chemical Ecology*, 31(5):1003-1021, 2005.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola*, 29(3):1-79, 2016.
- Howeler, R. H. *The Cassava Handbook: A reference manual based on the asian regional cassava training course, held in Thailand*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p.204, 2012.
- Janssen, A.; Hofker, C. D.; Braun, A. R.; Mesa, N.; Sabelis, M. W.; Bellotti, A. C. Preselecting predatory mites for biological control: the use of an olfactometer. *Bulletin of Entomological Research*, 80(2):177:181, 1990.
- Kappers, I. F.; Hoogerbrugge, H.; Bouwmeester, H. J.; Dicke, M. Variation in Herbivory-induced volatiles among cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties has consequences for the attraction of carnivorous natural enemies. *Journal of Chemical Ecology*, 37:150-160, 2011.
- Karban, R.; Baldwin, I. T. *Induced Responses to Herbivory*. Chicago, University of Chicago, 1997.
- Kessler, A.; Baldwin, I. T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science*, 291:2141–2144, 2001.
- Kessler, A.; Halitschke, R.; Diezel, C.; Baldwin, I. T. Priming of plant defense responses in nature by airborne signaling between *Artemisia tridentate* and *Nicotiana attenuate*. *Oecologia*, 148(2):280–292, 2006.

- Krips, O. E.; Willems, P. E. L.; Gols, R.; Posthumus, M. A.; Dicke, M. The response of *Phytoseiulus persimilis* to spider mite-induced volatiles from gerbera: influence of starvation and experience. *Journal of Chemical Ecology*, 25(12):2623–2641, 1999.
- Maeda, T; Takabayashi, J. Production of herbivore-induced plant volatiles and their attractiveness to *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) with changes of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) density on a plant. *Applied Entomology and Zoology*, 36(1):47–52, 2001.
- Matsui, K. Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3):274–280, 2006.
- Mattiacci, L.; Dicke, M.; Posthumus, M. A.  $\beta$ -Glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(6):2036–2040, 1995.
- McCormick, A. C.; Unsicker, S. B.; Gershenzon, J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science*, 17(5):303–310, 2012.
- McMurtry, J.A.; Huffaker, C. B.; van de Vrie, M. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: a review. I Tetranychid enemies: their biological characters and the impact of spray practices. *Hilgardia*, 40(11): 331–390, 1970.
- Migeon, A.; Nouguier, E.; Dorkeld, D. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. *Trends in Acarology*, p:557–560, 2011. Disponível em: <<http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb/>>
- Moraes, G. J.; Flechtman, C. H. W. *Ácaros fitófagos do nordeste do Brasil*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 16(2):117–186, 1981.
- Moraes, G. J.; Alencar, J. A.; Lima, J. L. S.; Yaninek, J. S.; Delalibera, I. Jr. Alternative plant habitats for common phytoseiid predators of the cassava green mite (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) in northeast Brazil. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 17:77–90, 1990.
- Moraes, G. J.; Silva, C. A. D.; Moreira, A. N. Biology of a strain of *Neoseiulus idaeus* (Acari: Phytoseiidae) from Southwest Brazil. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 18:213–220, 1994.

- Moraes, C. M.; Lewis, W. J.; Tumlinson, J. H. Examining plant-parasitoid interactions in tritrophic systems. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29(2):189-203, 2000.
- Moraes, M. C. B.; Laumann, R. A.; Sujii, E. R.; Pires, C.; Borges, M. Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(1):27-237, 2005.
- Mumm, R.; Posthumus, M. A.; Dicke, M. Significance of terpenoids in induced indirect plant defence against herbivorous arthropods. *Plant, Cell and Environment*, 31(4):575-585, 2008.
- Oliveira, M. R. V.; Lima, L. H. C. *Moscas-brancas na cultura da mandioca no Brasil*. Embrapa-Recursos Genéticos e Biotecnológicos, Brasília, 74p, 2006.
- Pallini, A.; Janssen, A.; Sabelis, M. W. Odour-mediated responses of phytophagous mites to conspecific and heterospecific competitors. *Oecologia*, 110(12):179–185, 1997.
- Paré, P. W.; Tumlinson, J. H. Induced synthesis of plant volatiles. *Nature*, 385:30-31, 1997.
- Paré, P. W.; Tumlinson, J. H. Plant Volatiles as a Defense against Insect Herbivores. *Plant Physiology*, 121:325–331, 1999.
- Pinto-Zevallos, D. M.; Martins, C. B. C.; Pellegrino, A. C.; Zarbin, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. *Química Nova*, 36(9):1395-1405, 2013.
- Pinto-Zevallos, D.; Zarbin, P. H. G. A química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. *Química Nova*, 36(10):1509 -1513, 2013.
- Pichersky, E.; Gershenzon, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion Plant Biology*, 5(3):237-43, 2002.
- Rasmann, S.; Köllner, T. G.; Degenhardt, J.; Hiltpold, I.; Toepfer, S.; Kuhlmann, U.; Gershenzon, J.; Turlings, T. C. J. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, 434:732-737, 2005.



Reichert, M. B.; Toldi, M.; Rode, P. A.; Ferla, J. J.; Ferla, N. J. Biological performance of the predatory mite *Neoseiulus idaeus* (Phytoseiidae): a candidate for the control of tetranychid mites in Brazilian soybean crops. *Brazilian Journal of Biology*, 2016.

Rodriguez-Saona, C. R.; Rodriguez-Saona, L. E.; Frost, C. J. Herbivore-induced volatiles in the perennial shrub, *Vaccinium corymbosum*, and their role in inter-branch signaling. *Journal of Chemical Ecology*, 35:163–75, 2009.

Ruther, J.; Kleier, S. Plant-plant signaling: ethylene synergizes volatile emission in *Zea mays* induced by exposure to (Z)-3-hexen-1-ol. *Journal of Chemical Ecology*, 31(9):2217-2222, 2005.

Sabelis, M. W.; Van De Baan, H. E. Location of distant spider mite colonies by phytoseid predators: demonstration of specific kairomones emitted by *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 33(3):303-314, 1983.

Sabelis, M. W.; Dicke, M. Long-range dispersal and searching behavior. In: Helle, W.; Sabelis, M. W. (eds.). *Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control*. World Crop Pests, Elsevier, Amsterdam. p.141-160, 1985.

Sarmiento, R. A.; Lemos, F.; Dias, C. R.; Pallini, A.; Venzon, M. Infoquímicos induzidos por herbivoria mediando a comunicação entre plantas de tomate e o predador *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ceres*, 55(5):439-444, 2008.

Schmelz, E. A.; Carroll, M. J.; LeClere, S.; Phipps, S. M.; Meredith, J.; Chourey, P. M.; Alborn, H. T.; Teal, P. E. A. Fragments of ATP synthase mediate plant perception of insect attack. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(23):8894–99, 2006.

Schmelz, E. A.; LeClere, S.; Carroll, M. J.; Alborn, H. T.; Teal, P. E. A. Cowpea (*Vigna unguiculata*) chloroplastic ATP synthase is the source of multiple plant defense elicitors during insect herbivory. *Plant Physiology*, 144(2):793–805, 2007.

Shimoda, T.; Ozawa, R.; Sano, K.; Yano, E.; Takabayashi, J. The involvement of volatile infochemicals from spider mites and from food-plants in prey location of the generalist predatory mite *Neoseiulus californicus*. *Journal of Chemical Ecology*, 31(9):2019-2032, 2005.

- Shiojiri, K.; Ozawa, R.; Kugimiya, S.; Uefune, M.; van Wijk, M.; Sabelis, M. W.; Takabayashi, J. Herbivore-specific, density-dependent induction of plant volatiles: honest or “cry wolf” signals? *PLoS ONE*, 5(8), 2010.
- Silva, A. G.; Souza, B. H. S.; Rodrigues, N. E. L.; Bottega, D. B.; Boiça Júnior, A. L. Interação tritrófica: aspectos gerais e suas implicações no Manejo Integrado de Pragas. *Nucleus*, 9(1):35-47, 2012.
- Steidle, J. L. M.; Van Loon, J. J. A. Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthropods: testing a concept. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 108(3):133-148, 2003.
- Takabayashi, J.; Dicke, M.; Posthumus, M. A. Variation in composition of predator attracting allelochemicals emitted by herbivore-infested plants: Relative influence of plant and herbivore. *Chemoecology*, 2(1):1-6, 1991.
- Takabayashi, J.; Dicke, M. Response of predatory mites with different rearing histories to volatiles of uninfested plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 64(2):187-193, 1992.
- Takabayashi, J.; Dicke, M.; Posthumus, M. A. Volatile herbivore-induced terpenoids in plant-mice interactions: variation caused by biotic and abiotic factors. *Journal of Chemical Ecology*, 20(6):1329-1354, 1994.
- Takabayashi, J.; Dicke, M.; Takahashi, S.; Posthumus, M. A. Developmental stage of the herbivore *Pseudaletia separata* affects the production of herbivore-induced synomone by corn plants. *Journal of Chemical Ecology*, 21(3):273-287, 1995.
- Takabayashi, J.; Dicke, M. Plant-carnivore mutualism through herbivore-induced carnivore attractants. *Trends in Plant Science*, 1(4):109–113, 1996.
- Takabayashi J.; Sabelis M. W.; Janssen A.; Shiojiri K.; van Wijk M. Can plants betray the presence of multiple herbivore species to predators and parasitoids? The role of learning in phytochemical information networks. *Ecological Research*, 21(1):3–8, 2006.
- Thaler, J. S.; Humphrey, P. T.; Whiteman, N. K. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. *Trends in Plant Science*, 17(5):60–270, 2012.

Turlings, T. C. J.; Tumlinson, J. H. Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(17):8399–8402, 1992.

Turlings, T. C. J.; Wackers, F. L.; Vet, L. E. M.; Lewis, W. J.; Tumlinson, J. H. Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. In: Papaj, D. R.; Lewis, A. C. (Ed.). *Insect Learning*. New York: Chapman & Hall, p.51-78, 1993.

Turlings, T. C. J.; Loughrin, J. H.; McCall, P. J.; Rose, U. S. R.; Lewis, W. J.; Tumlinson, J. H. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Science*, 92:4169-4174, 1995.

Turlings, T. C. J.; Lengwiller, U. B.; Bernasconi, M. L.; Wechsler, D. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta*, 207(1):146-152, 1998.

Turlings, T. C. J.; Alborn, H. T.; Loughrin, J. H.; Tumlinson, J. H. Volicitin, an elicitor of maize volatiles in oral secretion of *Spodoptera exigua*: Isolation and bioactivity. *Journal of Chemical Ecology*, 26:189–202, 2000.

Van Den Boom, C. E. M.; Van Beek, T. A.; Posthumus, M. A.; De Groot, A.; Dicke, M. Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Tetranychus urticae* feeding on plants from various families. *Journal of Chemical Ecology*, 30(1):69-89, 2004.

Van Wijk, M.; Paulien, J. A.; Sabelis, M. W. Predatory mite attraction to herbivore-induced plant odors is not a consequence of attraction to individual herbivore-induced plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 34(6):791–803, 2008.

Vet, L. E. M.; Dicke, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*, 37(1):141-172, 1992.

Voelckel, C.; Baldwin, I. T. Generalist and specialist lepidopteran larvae elicit different transcriptional responses in *Nicotiana attenuata*, which correlate with larval FAC profiles. *Ecology Letters*, 7:770–775, 2004.

War, A. R.; Sharma, H. C.; Paulraj, M. G.; War, M. Y.; Ignacimuthu, S. Herbivore induced plant volatiles: Their role in plant defense for pest management. *Plant Signaling and Behavior*, 6(12):1973–1978, 2011.

Watanabe, M. A.; Moraes, G. J.; Gastaldo, I. Jr.; Nicolella, G. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. *Scientia Agricola*, 51(1):75-81, 1994.

Whittaker, R. H.; Feeny, P. P. *Allelochemicals: chemical interactions between species* *Science*, 171:757–770, 1971.

Yaninek, J. S.; Moraes, G. J.; Markham, R. H. *Handbook on the cassava green mite (Mononychellus tanajoa) in África*. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture, 140p, 1989.

Yaninek, J.S.; Mégevand, B.; De Moraes, G. J.; Bakker, F.; Braun, A.; Herren, H. Establishment of the neotropical predator *Amblyseius idaeus* (Acari: Phytoseiidae) in Benin, West África. *Biocontrol Science and Technology*, 1(4):323-330, 1991.

Zarbin, P. H. G.; Rodrigues, M. A. C. M.; Lima, E. R. Insect pheromones: technology and challenges for a competitive agriculture in Brazil. *Química Nova*, 32(3):722-731, 2009.